

Авторы:

Ю Б. БЫЗОВА, М С. ГИЛЯРОВ, В ДУНГЕР,
А А ЗАХАРОВ, Л. С. КОЗЛОВСКАЯ, Г. А. КОРГАНОВА,
Г П. МАЗАНЦЕВА, В. П. МЕЛЕЦИС, И ПРАССЕ,
Ю Г ПУЗАЧЕНКО, Л. Б. РЫБАЛОВ, Б. Р. СТРИГАНОВА

Количественные методы в почвенной зоологии/Ю Б. Бызова, М. С. Гиляров, В. Дунгер и др.—М: Наука, 1987.

В книге дан обзор современных методов сбора и количественного учета представителей всех размерных групп беспозвоночных, обитающих в почве. Рассмотрены математические методы анализа структуры сообществ и определений трофо-энергетических показателей почвенных беспозвоночных, возможности использования почвенного животного населения для характеристики почв. Дано описание новых методов изучения биогеоценотической деятельности почвообитающих животных и количественной оценки роли отдельных групп в биологическом круговороте.

Для зоологов, энтомологов, почвоведов, экологов

Рецензенты:

доктор биологических наук Ю И ЧЕРНОВ
доктор биологических наук И Х ШАРОВА

Количественные методы в почвенной зоологии

Утверждено к печати Институтом эволюционной морфологии и экологии животных им А Н Северцова Академии наук СССР

Редактор издательства Э А Вишнякова, Художник Г П Валлас
Художественный редактор Н А Фильчагина Технические редакторы
И Н Жмуркина М Ю Соловьева Корректор А Б Васильев

ИБ № 31099

Сдано в набор 16 06 86 Подписано к печати 11 09 86 Т 13865 Формат
84×108^{1/32} Бумага типографская № 1 Гарнитура литературная. Печать
высокая Усл печ л 15 12 Усл кр отт 15,44 Уч изд л 10 1

Тираж 1500 экз Тип зак 4909 Цена 2 р 70 к

Ордена Трудового Красного Знамени издательство «Наука»
117864 ГСП-7, Москва, В-485, Профсоюзная ул, 90

2 я типография издательства «Наука» 121099 Москва, Г 99,
Шубинский пер., 6.

Введение

Почва — сложная трехфазная полидисперсная среда. В промежутках между твердыми частицами почвы и их агрегатами находятся полости, заполненные воздухом и водой. В зависимости от климатических условий, сезона и погоды в почве меняется соотношение объемов воздуха и воды, а также и физико-химическое состояние почвенной влаги. Часть воды в почве, особенно после дождей и таяния снега, находится в состоянии медленно просачивающегося по более крупным полостям потока капель (гравитационная вода). Часть воды находится в состоянии капиллярного поднятия, передвигается в любом направлении, подчиняясь силам поверхностного натяжения и смачивания (капиллярная влага). Часть воды обволакивает твердые частицы, оказываясь в разной степени прочно с ними связанной (разные формы пленочной влаги). Некоторое количество адсорбированной воды почвенные твердые частицы прочно удерживают при нормальной температуре (гигроскопическая влага, при содержании в почве воды вдвое больше гигроскопического запаса воздуха в почве насыщен водяным паром).

Таким образом, в полостях между твердыми частицами могут существовать мелкие формы физиологически водных животных (простейшие, коловратки, нематоды), населяющие в сущности не всю почву в целом, а те крохотные водоемы, которые образуются в скоплениях почвенной влаги. В более влажных почвах или при более влажной погоде они могут активно передвигаться в каплях воды, а в сухих почвах они прилипают (адгезируют) к почвенным частицам, удерживаемые силами поверхностного натяжения пленки воды.

Одну из категорий почвенных обитателей образуют мелкие, по существу водные животные. Другая категория — животные, размеры которых меньше, чем промежутки между частицами почвы, и тем более меньше, чем трещины или почвенные ходы. Это так называемые микроартроподы — клещи, многоножки-симфилы, протурры, коллемболы, некоторые мелкие высшие насекомые. Они передвигаются в полостях и ходах между частицам

почвы как по любому твердому субстрату. От соприкосновения с капельной влагой они защищены несмачиваемыми покровами; в случае заполнения промежутков между твердыми частицами капельной влагой эти животные оказываются в пузырьке воздуха и дышат по принципу физической жабры или (при смачивании) дышат всей поверхностью тела, как водные организмы. Не обладая силой преодолеть поверхностное натяжение, они утрачивают подвижность. Крупные беспозвоночные (дождевые черви, мокрицы, многоножки-геофилиды, личинки многих насекомых) активно прокладывают ходы, размельчая почву или раздвигая частицы почвы. Таким образом, обитая в почве, разные размерные группы беспозвоночных находятся как бы в разных средах. И в каждой размерной группе есть свои представители и сапрофагов, и фитофагов, и хищников. Представители разных размерных групп по-своему влияют на все протекающие в почве процессы и на все почвенные свойства.

Между размерами тела и общей численностью представителей разных размерных групп существует обратная корреляция, которая может быть выражена почти прямой зависимостью (Гиляров, 1944).

Отдельные размерные группы почвенных животных неодинаково влияют на разные свойства почвы: например, почвенные простейшие вообще не могут прокладывать ходы в почве, нематоды — создавать некапиллярную скважность, к чему способны более крупные беспозвоночные. Поэтому разные размерные группы требуют самостоятельных методов изучения. Давно принято деление всех почвенных беспозвоночных на размерные группы. К сожалению, предлагавшиеся термины (микро-, мезо- и макрофауна) у разных исследователей приобрели разное значение, поэтому пользоваться ими в настоящее время стало неудобно. Микроскопических одноклеточных было предложено объединить под общим названием «эумикрофауна» (Гиляров, 1941), или «наннофауна» (Rapoport, Tschapek, 1967).

Термином «микрофауна» у нас (Гиляров, 1941) и во Франции (Delamare-Deboutville, 1951; Vannier, Cancela de Fonseca, 1966) обозначают размерную группу, к которой относятся «микроартроподы» — клещи и коллемболы, но многие английские авторы (Fenton, 1947; Murphy, 1953) этот термин относят к простейшим и мелким связанным с почвой водным организмам (Rotatoria, Nematodes).

Многие немецкие исследователи применяют к клещам и коллемболам термин «мезофауна» (Dunger, 1964; Brauns, 1968), включая в эту размерную группу и коловраток. Английские авторы, следуя Мэрфи (Murphy, 1953, 1962), часто стали обозначать эту группу термином «мейофауна».

В то же время термин «мезофауна» в нашей литературе давно применяется по отношению к крупным беспозвоночным, легко учитываемым в полевых условиях при ручной разборке проб почвы (Гиляров, 1941). Но у Дунгера и Браунса эти формы объединены под термином «макрофауна», который в нашей классификации (Гиляров, 1941) отнесен к почвенным позвоночным.

Приведенные сопоставления показывают тот хаос, который в настоящее время царит в литературе, связанной с терминологией и классификацией размерных групп почвенных животных. Терминология должна подчиняться известным правилам приоритета, в этом отношении наша классификация имеет преимущество. Но всякая классификация по одному признаку сугубо искусственна, и иногда представители разных размерных групп, но близкие по величине настолько отличаются по своим биологическим особенностям и по применяемым для их извлечения из почвы методам, что объединение их явно нецелесообразно (например, крупные инфузории бывают крупнее, чем мелкие личинки клещей).

Поэтому стоит выделить такие размерные группы, которые характеризуются и сходными методами их исследования, приняв за основу нашу классификацию (Гиляров, 1941) с терминологическими улучшениями Рапорта и Чапека применительно к простейшим (Rapport, Tscharek, 1967): почвенные простейшие — нанофауна; почвенные микроартроподы — микрофауна; крупные почвенные оеспозвоночные — мезофауна, почвенные позвоночные — макрофауна. Ряд групп в эту классификацию плохо укладывается (коловратки, нематоды, энхитреиды), и потому в соответствующих разделах настоящего руководства мы избегаем пользоваться этими терминами. Но каждая из указанных размерных групп требует своих методов выделения из почвы, количественного учета и т. д.

Методы учета зависят от характера и величины объекта, от его численности, почвенных условий и т. д. Численность объектов учета определяет в первую очередь размеры и количество проб, характер объектов учета и их размеры — метод анализа проб, подвижность животных — способ взятия проб и т. д.

Закономерность отношений размеров и численности почвенных животных (более высокая численность мелких, чем крупных) дает возможность при учете мелких форм брать пробы меньшего объема, что позволяет применять к ним более тонкие и трудоемкие методы анализа без ущерба для статистической достоверности результатов.

При оценке численности почвенных животных, в большей (крупные объекты — дождевые черви, личинки насекомых и др.) или меньшей степени способных к вертикальным миграциям в почве, необходимо пересчет данных учета переводить на единицу поверхности (1 м^2). Поэтому либо проводят взятие пробы на глубину встречаемости объектов учета (крупные формы), либо берут пробы из разных горизонтов, заселенных данной группой объектов (по профилю почвенного разреза) и проводят потом пересчет на 1 м^2 с учетом заселенности отдельных горизонтов почвы (при учете простейших, нематод, микроартропод и пр.).

Определение активности разных групп животных также проводят с учетом их размерной и биологической специфики.

* * *

Подготовка настоящего издания велась под руководством академика Меркурия Сергеевича Гилярова, безвременно скончавшегося в марте 1985 г. В книге содержатся материалы по методам почвенно-зоологических исследований, разработанным М. С. Гиляровым и его учениками (Гиляров, 1941; Методы почвенно-зоологических исследований, 1975).

Методы количественных учетов, фиксации и культивирования почвенных беспозвоночных

Основной этап любого полевого почвенно-зоологического исследования — определение численности изучаемых почвенных животных (с точностью, позволяющей сравнивать численность изучаемых объектов на разных участках), выявление закономерностей распределения организмов.

Такие данные необходимы для оценки почвообразовательной роли почвенных животных в разных ее аспектах (определение количества разрушителей растительных остатков, выявление численности животных, прокладывающих в почве ходы и тем влияющих на скважность, водопроницаемость и аэрацию почвы, и т. д.). Необходимы они и для определения заселенности почвы вредными организмами (личинки чернотелок, хрущей, щелкунов, гусеницы подгрызающих совок и т. п.), а также численности тех насекомых, которые повреждают надземные части растений, но уходят в почву на зимовку или для окукливания (капустная совка, сосновые пилильщики, гусеницы лунки серебристой и многие другие вредители).

Методы учета почвообитающих (или встречающихся в почве) животных схематически можно разделить на прямые и косвенные. Прямые методы позволяют исследователю получить цифры, показывающие количество учитываемых объектов либо на единицу площади поверхности почвы, либо на единицу объема почвы. Косвенные методы хотя и не дают достаточно надежного представления о численности объекта учета, но позволяют сравнить с большей или меньшей степенью приближения заселенность разных участков. К косвенным методам можно относить, например, учет крупных (заметных простым глазом) насекомых за плугом в отваливаемом слое и в борозде (как проволочники и личинки хрущей) или дождевых червей. Этот метод требует введения коэффициентов пересчета, которые должны быть для данных почвенно-

климатических и сезонных условий определены на основе сравнения с точными данными, добытыми методами прямого учета. По наблюдениям С. П. Иванова, при учете за плугом получают данные, допускающие сравнение плотности залегания личинок шелкоунов на разных полях. Однако выявляется при этом всего примерно 12% личинок, обитающих на площади борозды. В Австралии (Roberts, Ridsdill, Smith, 1972) было выполнено аналогичное исследование, показавшее, что при сравнении численности личинок пластинчатоусых, вывороченных плугом на отрезке борозды длиной 10 м, с учетными методами ручной разборки в пробах диаметром 30 см обнаруживается высокая корреляция, более четкая осенью и менее заметная весной, но в обоих случаях только в период, когда все личинки хрущей были в поверхностном слое почвы. Этот метод годится при исследованиях по сельскохозяйственной энтомологии на полевых землях, но не пригоден в лесу, в горных местностях и в тех случаях, когда требуется высокая степень точности учета.

Поэтому при почвенно-зоологических исследованиях применяют методы прямого учета, позволяющие определить численность почвенных животных во всем заселенном ими объеме почвы (до глубины встречаемости), рассчитанную на 1 м².

Подсчет почвенных личинок насекомых, концентрирующихся на приманках, тоже относится к числу относительных методов. Известен подсчет проволочников, улавливаемых на приманки из ломтей картофеля, натякаемых на палочки и закапываемых на глубину около 5 см на расстоянии 50—100 см друг от друга. Уловистость приманок очень варьирует в зависимости от почвенных и погодных условий, растительного покрова (Гиляров, 1949).

Для учета гусениц подгрызающих совок (*Feltia exclamationis* L., *Euxoa segetum* Schiff. и др.) и жуков-чернотелок рекомендуют на полях пропашных культур и на парах раскладывать кучки выполотых сорняков или скошенной травы — это так называемые притеняющие или концентрирующие приманки. Под такими приманками на участках с высокой плотностью залегания этих вредителей скапливается иногда по несколько десятков особей под каждой кучкой (проверку и подсчет следует проводить в ранние часы на следующее утро после раскладки). Косвенные методы могут дополнять и уточнять данные других методов, но не заменять их, т. к. эффективность косвенных методов определяется очень многими факторами.

Учет крупных беспозвоночных (мезофауна)

Метод раскопок и ручной разборки проб почвы

Наиболее универсален, технически прост и применим при работах на почвах с разным механическим составом и разной степени окультуренности метод послойной выкопки и разборки проб почвы. При раскопках во влажное время года и во влажных районах оптимальным размером пробы следует признать принятый у нас в практике почвенно-зоологических исследований (Гиляров, 1941) и применяемый при работах на службе учета вредных насекомых размер пробы $0,25 \text{ м}^2$ ($50 \text{ см} \times 50 \text{ см}$).

В связи с тем что метод ручной разборки почвенных проб очень трудоемок, важное значение имеет вопрос о минимальном количестве проб, позволяющем, во-первых, полностью выявить видовой состав беспозвоночных исследуемой территории, во-вторых, получить репрезентативные данные по частоте их встречаемости, в-третьих, определить уровни численности отдельных видов. Там, где позволяет глубина почвенного профиля и механический состав почвы, рекомендуется брать пробы площадью в $\frac{1}{16} \text{ м}^2$ ($25 \times 25 \text{ см}$). При этом можно увеличить число проб с одного участка в 2—3 раза. Однако предварительно необходимо убедиться, что численность крупных животных (дождевые черви, личинки насекомых) в одной пробе значительно больше 1. Если при малой площади пробы в серии из одного участка в значительном количестве повторностей представители того или иного вида отсутствуют или встречаются единично, это может привести к искажению результатов определения численности животных.

В аридных районах в сухие периоды года размеры отдельной пробы приходится увеличивать до 1 м^2 ($100 \text{ см} \times 100 \text{ см}$), а иногда и до 2 м^2 ($100 \text{ см} \times 200 \text{ см}$), так как в таких условиях беспозвоночные уходят на значительную глубину, а вырыть яму с отвесными стенками при малой площади пробы невозможно.

Поскольку численность вертикально мигрирующих крупных почвенных беспозвоночных в конечном итоге рассчитывается на единицу поверхности (на 1 м^2), а при раскопках определяется число беспозвоночных во всем

столбе выкапываемой пробы, пробу приходится брать до нижнего предела встречаемости почвенных животных. При достаточно высокой влажности в весеннее время бывает возможным ограничиться слоем глубиной до 30—50 см, но в сухих местностях и особенно на легких почвах приходится брать более глубокие пробы (100 см и более). Так, например, в степи под Курском в летнее время беспозвоночные (дождевые черви *Nicodrilus roseus* личинки долгоносиков, геофилиды) встречались до глубины 130 см. В песчаной сухой степи Аршань-Зельменя личинки пластинчатоусых и долгоносиков в июле встречались на глубине до 180 см. На песчаных террасах Донца близ Каменска-Шахтинского, где под слоем бедной песчаной почвы залегают погребенные гумусированные пески, личинки пластинчатоусых и дождевые черви на участке с аренофильной растительностью и под посадками тополя встречались летом до глубины 230 см. В слое 180—230 см они были многочисленнее, чем в более поверхностных горизонтах. На необрабатываемых землях в Голодной степи личинки *Ptyopus turcestanicus* и *Pleonopus tereticollis* Men уходят на глубину около 2 м.

Приведенные примеры довольно редки. Чаще, особенно весной, крупные почвенные беспозвоночные держатся близ поверхности почвы (хотя известно, что еще Г. Н. Высоккий обнаружил ходы дождевых червей, достигающие до 8 м в глубину почвы!)

Процесс взятия пробы проходит следующим образом. Сперва отмечают площадь пробы, забивая по углам отмеренного квадрата колышки, натягивая между ними бечевку. Затем от границ отмеренной площадки отгребают в разные стороны опад или подстилку (если пробу берут в лесу) или сухую сыпучую землю поверхностного слоя (на парах). Рядом с пробой с одной или с двух сторон раскладывают клеенку, лист пластика, мешковину или другую плотную материю, на которую потом и помещают выбираемую из пробы почву. Сперва с площади пробы на клеенку снимают руками опад и другие растительные остатки, которые тщательно вручную перебирают, учитывая и собирая всех найденных при этом животных, а траву выщипывают, что облегчает дальнейшую разборку почвы из верхнего слоя почвы.

Обитатели верхнего слоя рыхлой подстилки, поверхности почвы, укрывающиеся от солнца в щелях и полосках, под камнями и опадом (герпетобионты, эпигейные формы), — в большинстве своем активно передвигающиеся

ся животные. Это — пауки, имаго и частично личинки многих жуков (жужелиц, стафилинид, мертвоедов и т. д.). Почти все методы учета таких форм относительны, пригодны скорее для сравнительного изучения их динамической плотности, а не реального определения плотности популяции. Наиболее близки к абсолютному учету разборка субстрата (подстилки, мха) вручную или с помощью различных типов почвенных сит. Однако экстраполяция таких данных на площадь не всегда возможна, поскольку эти быстро передвигающиеся формы склонны концентрироваться в определенных, более благоприятных (в смысле кормности, микроклимата и других факторов, часто неизвестных исследователю) местах — под различными укрытиями, в гниющих растительных остатках, в речных наносах и т. д., причем многие летающие формы могут преодолевать в периоды максимумов активности значительные расстояния, прилетая из-за пределов учетной площади.

Оптимальный размер пробных площадей для напочвенных беспозвоночных $0,25 \text{ м}^2$. Меньшие площадки содержат мало крупных форм, а разборка больших площадок слишком трудоемка. После удаления разобранных растительных остатков приступают к выкапыванию почвы с площади пробы лопатой. Выбрасываемые на разложенную рядом с пробой клеенку (или другую подстилку) небольшие порции земли тщательно перебирают руками, причем более крупные комья приходится разбивать, а сплетения корешков и дерновину — разрывать. Всю землю из разбираемого слоя порцию за порцией перетирают на весу между ладонями, тщательно следя за всей осыпающейся на клеенку землей и собирая падающих и легко при этом обнаруживаемых животных. Можно рассеивать над клеенкой горсти почвы, свободно лежащей на обращенной кверху ладони, или, распределив почву по поверхности клеенки тонким слоем, разгребать ее пинцетом (Головянко, 1936; Schaerffenberg, 1939).

Животных собирают отдельно из каждой пробы и слоя. Беспозвоночных для специальной сложной фиксации (дождевые черви, моллюски) или для опытов помещают в матерчатые мешочки или баночки с небольшим количеством взятой из пробы почвы. Хищники должны быть размещены поодиночке. Всех найденных при раскопках животных (в том числе и раздавленных, непригодных для фиксации, или убежавших) тут же записывают в дневник с той точностью определения, которая до-

ступна на месте, или под условными наименованиями. В дневнике дается подробная характеристика участка и места взятия пробы. В мешочки с червями, в баночки и пробирки кладут временную этикетку с номером пробы (и слоя). Если раскопки проводят послойно (что предпочтительнее), в этикетках числителем обозначают номер пробы, знаменателем — номер или глубину слоя, например № 4/(10—20), с соответствующей записью в дневнике. Фиксацию живых объектов и консервацию собранного материала проводят в конце рабочего дня в камеральных условиях, о чем сказано ниже.

Для учета крупных почвенных беспозвоночных наиболее благоприятна такая влажность почвы, при которой горсть почвы, зажата в кулак, образует ком, сохраняющий свою форму при разжатии руки, но легко рассыпающийся от легкого удара, а почва не пристает к руке. При такой влажности поверхностного слоя почвы беспозвоночные держатся у поверхности, а почва при разборке легко перебирается и просеивается.

При полевых исследованиях почвенных беспозвоночных важно знать не только их численность, но и распределение в почве по глубине. Это бывает важно для сопоставления этих данных с распределением корневых систем и расположением генетических горизонтов почвы, для выявления тех глубин, на которых держатся те или иные виды и т. д. Поэтому в разные сезоны вегетационного периода целесообразно проводить послойные раскопки, позволяющие выявить глубину нахождения основных представителей почвенной фауны и их вертикальные миграции. Удобнее всего при взятии проб анализировать почву по слоям, глубиной 10 см каждый. После взятия пробы на глубину до прекращения встречаемости беспозвоночных следует провести замеры генетических горизонтов почвы и сделать краткое описание разреза; если попутно не берут проб на влажность, необходимо глазомерно определить влажность каждого слоя почвы. При этом следует иметь в виду, что иногда после перерыва в 10—20 см снова встречаются почвенные обитатели. Глубже других уходят обычно дождевые черви и геофилиды. Остальные пробы достаточно брать на 10 см глубже встречаемости, выявленной при взятии первой пробы. Пробы площадью 50 см × 50 см лучше всего брать вчетвером. Один выкапывает землю, двое ее перебирают, один собирает и записывает встреченных животных. Для взятия проб площадью 25 см × 25 см на плотных почвах мож-

но пользоваться лопатой, при работе на сыпучих почвах—лучше металлической квадратной рамкой с длиной одной стороны 25 см, которую забивают в почву до глубины 10 см деревянным молотком. Во многих случаях удобным оказывается метод взятия проб для учета крупных беспозвоночных с помощью крупных буров. Например, в Белоруссии почвенные экологи, работавшие на торфянистых и легких супесчаных почвах без крупных корней и камней, брали пробы стальным цилиндрическим буром диаметром 16 см (площадью 0,02 м²). Высота цилиндра 25 см. Пробы, взятые таким буром, можно помещать в полиэтиленовые мешки и исследовать в помещении (Кипенварлиц, 1961). Этот метод взятия проб применим далеко не на всех почвах — при работе в лесу, на щебнистых и на сильно уплотненных почвах пользоваться буром бывает невозможно.

Для повышения точности размера пробы (в сравнении с рытьем почвы лопатой) рекомендовано взятие проб с помощью забиваемых в почву рамок или пластинок (Morris, 1922; Zicsi, 1957). Однако, как справедливо указывает Зичи, этот способ пригоден только при взятии проб до глубины 20 см, т. е. при очень ограниченных по своим задачам исследованиях. Для облегчения работы по анализу почвенных проб и для повышения точности результатов за счет нивелировки индивидуальных особенностей сборщиков материала был предложен ряд специфических методов (Müller, 1965).

Метод промывки почвы

Один из методов извлечения беспозвоночных из проб почвы — промывка проб на системе сит, проводимая в стационарных условиях (в помещении с водопроводом). Такие методы были предложены давно (Morris, 1922; Shirk, 1936). Принцип устройства этих приборов показан на рис. 1 и 2. В установке Морриса верхнее сито имеет ячейки шириной 3,5 мм, среднее — 1,5 мм, нижнее — 0,5 мм. Проба почвы помещается на верхнее сито. Промываемые струей воды частицы почвы и различные включения (и животные) распределяются по ситам, а самые мелкие частицы почвы вымываются.

Применительно к полевым экспедиционным условиям метод промывки был разработан Т. Г. Григорьевой (1938). Образцы почв в мешках доставляют к берегу водоема или другому источнику больших количеств воды,

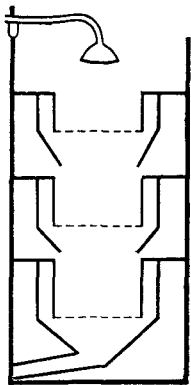


Рис. 1. Промывная установка Морриса (схема) (Гиляров, 1975)

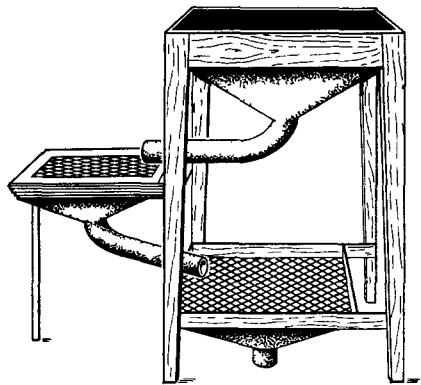


Рис. 2. Промывная установка Ширка (Гиляров, 1975)

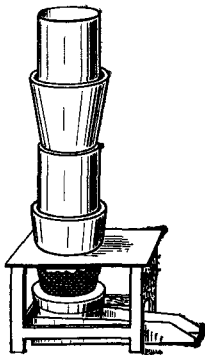


Рис. 3. Полевая промывная установка Т. Г. Григорьевой (Гиляров, 1975)

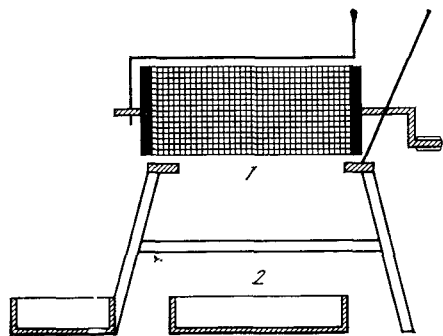


Рис. 4. Аппарат Гоукенса для просеивания почвы

1 — цилиндр из сита 2 — ящик для просеянной почвы с животными

где проводят промывку на системе сит, изготовленных из чередующихся друг с другом цилиндрических ведер и ведер, расширяющихся кверху, днища которых заменены сеткой — наиболее крупноячеистой у верхнего, наиболее мелкой — у нижнего ведра (рис 3). Метод промывки возможен только вблизи источника воды и очень громоздок; легче всего им пользоваться при стационарных исследованиях. Кроме того, эффективность этого метода невели-

ка при работе с лесными почвами, в которых обильны остатки растений, и особенно на торфяниках. Выборка животных, прилипающих к мокрым остаткам растений, очень затруднительна, а вся работа требует больших затрат времени в общем при учете крупных форм промывка нецелесообразна (Гиляров, 1941; Кипенварлиц, 1961).

Другой метод использования воды для извлечения крупных объектов из проб — взмучивание в насыщенном растворе соли — позволяет учитывать насекомых, но неэффективен при учете червей. Кроме того, при взмучивании в растворе соли всплывают растительные остатки, из которых трудно выбрать всплывающих животных.

В практике зарубежной прикладной энтомологии для учета почвенных насекомых широко рекомендовано просеивание почвы с использованием сит. Использование ручных сит для просеивания проб почвы — физически трудная и недостаточно производительная работа.

Удобный вариант — цилиндрическое сито, вращающееся вокруг продольной оси (рис. 4). Эта модель (Hawkins, 1936) очень проста в изготовлении и удобна при использовании. При вращении ручки и с ней всего цилиндра, ячейки сита которого порядка 5—8 мм, частицы почвы и животные попадают в подставленный ящик, где животные легко обнаруживаются, как и при ручной сортировке с перетираньем почвы между ладонями. Применение сит ограничено свойствами анализируемой почвы. Целесообразно использование сит на бесструктурных и слабоструктурных песках, при исследовании лесной подстилки.

Для учета всех групп почвенных беспозвоночных (дождевые черви, многоножки, насекомые на разных стадиях развития и пр.) ручная разборка проб на месте в полевых условиях — метод, дающий наиболее объективные данные о порядке численности и соотношении встречаемости отдельных таксонов и экологических групп. Именно данные, полученные при ручной разборке почвы, оказываются наиболее сопоставимыми при сравнительных зональных и региональных исследованиях.

Специально для учета дождевых червей применяется полив поверхности почвы (пробы) раздражающими покровами червей жидкостями, заставляющими их выходить на поверхность. Эванс и Гилд (Evans, Guild, 1947) применили с этой целью раствор марганцевокислого калия. Этот метод обладает тем недостатком, что заставляет выходить на поверхность только виды с широкими постоян-

ными ходами, как *Lumbricus terrestris* L., *Eisenia magnifica* Svetl. и др., большинство же более мелких собственно почвенных форм при применении этого метода с достаточной точностью не учитывается. В настоящее время этот метод не применяется. Для выгонки червей из почвы был предложен полив учетной поверхности почвы раствором формалина (Raw, 1959). Этот метод тоже особенно эффективен в отношении видов с вертикальными, мало ветвящимися ходами и неэффективен по отношению к видам, обитающим в минеральных слоях почвы, особенно выпадающим в состояние летнего покоя.

Рекомендуются растворы формалина крепостью от 0,14 до 0,5%. Слабые растворы эффективны во влажных районах для выгонки таких видов, как *Lumbricus terrestris*, но позволяют учесть не более 50% особей таких видов, как *Nicodrilus roseus* Sav. и *Nicodrilus caliginosus* Sav. Применение раствора крепостью 0,5% позволяет достаточно полно учитывать склонных к диапаузированию червей на участках с влажной и водопроницаемой почвой. Рекомендуется на пробу площадью 0,5 м² выливать 3 раза по 10 л раствора. Эффективнее всего этот метод при температуре около 10° и при влажности суглинистой почвы около 40%.

В тех случаях, когда исследователя не интересует вертикальное распределение видов и дождевые черви представлены поверхностными и норными видами, можно рекомендовать этот метод как менее трудоемкий. Однако для большинства почвенно-зоологических исследований он мало пригоден. Кроме того, при этом методе требуется доставка к пробам большого количества воды, что ограничивает его применение во многих случаях, особенно в лесах.

Следует, однако, отметить, что выгонка формалином — единственный метод, позволяющий выявить и хотя бы примерно определить численность таких червей, как *Scherotheca chicharia* Bouché, обитающих в трещинах известняков. Но в более сухих местностях этот метод недостаточно эффективен; один из его приверженцев (Zisci, 1962) в Венгрии рекомендует после выгонки червей формалином разобрать вручную верхние 10 см почвы.

Свидетельства в пользу большей эффективности формалинного метода при учете *L. terrestris* в сравнении с ручной разборкой, приведенные Рой (Raw, 1959), который применял пробы глубиной 20 см (а черви этого вида уходят и глубже 100 см!), не могут быть всецело приняты.

Наши проверки метода выгонки червей формалином в горных районах Армении и Алатау показали, что им можно в таких условиях пользоваться для качественных сборов, но что он значительно уступает методу ручной разборки при количественных учетах. Этот метод эффективен при учете далеко не всех беспозвоночных (кроме червей, наблюдается выход кивсяков и личинок двукрылых).

В случае очень богатых волокнистыми растительными остатками почв для извлечения дождевых червей рекомендуется метод, аналогичный методу извлечения из проб нематод. Пробы почвы доставляют в мешках и помещают в простой прибор следующего устройства. В детской ванночке на высоте 5 см от дна укрепляется проводочное сито, на которое и высыпают (равномерно распределяя) исследуемую торфянистую почву. Ванночку заливают наполовину водой, а затем над ней устанавливают батарею из 14—16-ваттных лампочек. Через 3 ч после включения лампочек снимают батарею лампочек, затем вынимают сито с почвой, а потом вылавливают из воды червей. На участке с густой зарослью *Deschampsia* этот метод оказался более эффективным, чем ручная разборка или выгонка формалином при учете червей, например вида *Nicodrilus caliginosus* и других.

Методы просеивания почвы и подстилки на ситах

Метод просеивания субстрата на ситах может быть рекомендован для сбора беспозвоночных из лесной подстилки, мха, сильно разложившейся древесины, сухого навоза, речных наносов, растительных остатков, грибов и т. д. Удобно пользоваться колонками стандартных почвенных сит (Тихомирова, 1975). При этом достаточно трех-четырех сит (с диаметром отверстий 5, 2, 0,5 мм, иногда для мелких форм 0,25 мм), дна и крышки. Субстрат крышкой или совком нагребают в верхнее сито (подушки мха, комья и т. д. нужно на сите расчлениить, а камни, палки и другие крупные предметы удалить). Колонка несколько раз энергично встряхивается в вертикальной и горизонтальной плоскости, после чего верхнее сито опорожняют и вновь заполняют субстратом. Эту операцию повторяют несколько раз (работая с сыпучими субстратами, надо следить, чтобы средние сита не переполнялись больше чем на треть своего объема), после чего колонку после-

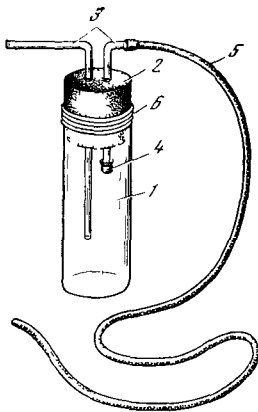


Рис. 5. Эксгаустер (Тихомирова, 1975)

1 — стеклянный цилиндр, 2 — резиновая пробка, 3 — стеклянные трубки, 4 — колпачок из мельничного газа, 5 — резиновая трубка, 6 — кольцо из лейкопластыря укрепляющее края цилиндра

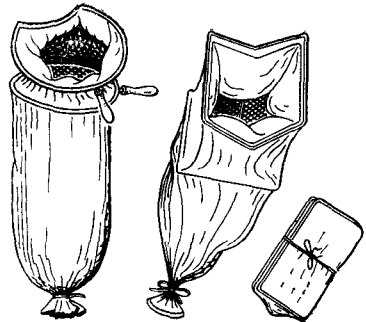


Рис. 6. Сифтеры для просеивания подстилки (Тихомирова, 1975)

довательно разбирают, извлекая беспозвоночных мягким пинцетом и эксгаустером. Наиболее удобен эксгаустер небольшого объема (~50 мл) с трубками, изогнутыми под прямым углом к цилиндру (рис. 5). Разборку сит нужно производить в тени, поскольку на солнце животные начинают быстро двигаться и чаще уходят (улетают) из сита, а многие формы быстро гибнут от перегрева. Некоторые мелкие неяркоокрашенные животные плохо заметны на ситах, поэтому субстрат из сит удобно разбирать в белой кювете. При просеивании частично теряются крупные формы, не прошедшие через верхнее сито. Поэтому удобно работать вдвоем, одновременно бегло просматривая сброшенный с него субстрат на клеенке или бумаге. Просеивание разных типов лесной подстилки показало, что для активных форм, склонных укрываться от опасности в скважинах, этот способ дает не худшие (например, для костянок) или даже лучшие (для имаго и личинок стафилинид, жуужелиц и других мелких жуков, кивсяков) результаты, чем ручная разборка подстилки, однако при этом несколько больше теряются поверхностно обитающие или затаивающиеся формы (пауки, сенокосцы, клопы). Этот способ позволяет значительно экономить время и не требует постоянного напряженного

внимания, что дает более стабильные результаты учета. Сочетая колонку сит с предварительным просеиванием на сите большого объема с крупной сеткой (удобны различные сита-мешки, предлагаемые многими авторами — Valogh, 1958; рис. 6), можно получить особенно значительную экономию времени по сравнению с ручной разборкой. Это важно еще и потому, что при длительной разборке подвижные животные, потревоженные сгребанием субстрата, успевают уйти с пробной площади. Работая с ситами, нужно сохранять их сухими (беречь от дождя, не просеивать слишком влажные субстраты) и следить, чтобы их отверстия не забивались.

Методы учета беспозвоночных ловушками и ловчими канавками

При раскопках и ручной разборке проб недоучитываются некоторые крупные хищные жужелицы, пауки, которые в дневное время находятся в укрытиях. Кроме того, результаты учетов раскопками или методом использования почвенных сит не всегда возможно экстраполировать на всю неоднородную обследуемую площадь. Поверхностные активно передвигающиеся формы нередко концентрируются в определенных микробиотопах с наиболее благоприятными для них условиями (в смысле кормности, микроклимата и пр.). Поэтому для представителей герпетобия наряду с методом раскопок чаще всего применяется относительный метод учета ловушками. Используются ловчие банки с фиксирующими жидкостями — ловушки Барбера (Barber, 1931) — или пустые с небольшим количеством рыхлой почвы на дне. Часто они применяются в сочетании с приманкой или ловчими канавками. Обзоры различных типов ловушек, приманок, фиксирующих жидкостей сделаны Скугравым (SkuhraVý, 1957) и Балогом (Balogh, 1958).

Метод ловушек позволяет учитывать динамическую плотность, т. е. число особей, пересекающих в единицу времени линию определенной длины (поперечник банки, длина ловчей канавки). Она, естественно, выше у более подвижных, много и быстро бегающих форм. При этом надо учитывать, что не все животные, оказавшиеся у горла банки, в нее попадут. С другой стороны, некоторые виды могут привлекаться тенью от крышки, более прохладным и влажным воздухом в банке, воспринимая ее как укрытие. Такая концентрация может быть особенно

значительной в открытых биотопах (например, на возделанных полях) в солнечные дни. Расчет на длину траншеи также не абсолютен, поскольку повышается процент улова крупных тяжелых форм за счет мелких или приспособленных к движению по вертикальным поверхностям.

Для некоторых экологических исследований динамическая плотность сама по себе является достаточной характеристикой исследуемых форм, например при сравнении поведения одних и тех же видов в разных биотопах, при исследованиях суточной или сезонной активности, зависимости ее от определенных внешних факторов и т. д. Однако эта характеристика для большинства напочвенных беспозвоночных определяется активностью в значительно большей степени, чем численностью.

Для определения соотношения между числом животных, собранных в ловушки, и числом животных, реально обитающих на данной площади, существуют три основных способа: 1) сопоставление данных учета ловушками и учета, максимально приближенного к абсолютному (разборка или просеивание проб определенной площади); 2) метод исчерпывания; 3) метод мечения. Общими ограничениями при использовании всех трех методов являются следующие: 1) отсутствие закономерных изменений активности во времени (проведение контрольных учетов в сжатые сроки в периоды со сходными погодными условиями; 2) отсутствие обновления состава популяции в период контрольного учета — не происходит интенсивного отрождения или гибели объектов, миграций активизации ранее покоившейся части популяции. Иными словами, использование всех методов требует предварительного знания экологии объектов учета в данном месте.

Метод исчерпывания для напочвенных беспозвоночных, включающий ряд последовательных отловов объекта на изолированной площади, был описан А. И. Кудриным (1971). При этом о реальном числе (запасе) особей на этой площади судят по убыванию численности по сравнению с неизолированным участком, где исчерпывания популяции не происходит. В опытах А. И. Кудрина на опытном участке располагался ряд огороженных площадок размером по 5 м². На каждой площадке располагались четыре ловушки — по две с внутренней и внешней сторон от стенки. Запас особей в загородках определялся по формуле:

$$M = M_0(1 - e^{-kT}) + aT,$$

где M — улов во внутренние ловушки; M_0 — запас объекта в загородке; e — основание натуральных логарифмов; K — константа истощения, в результате ряда допущений приравняемая к $1/M_0$; T — улов во внешние ловушки, используемый как временной параметр; a — константа проницаемости стенки. Применение параметра a осложняет использование этой формулы, поэтому объект исследования, материал и высоту стенки лучше подбирать так, чтобы стенка была практически непроницаемой. Тогда формула примет вид

$$M = M_0 [1 - e(M_0/T)]$$

или в дифференциальной форме

$$M = (1 - M/M_0)T.$$

Метод мечения позволяет определить запас особей на ограниченном участке с помощью индекса Линкольна, предложенного орнитологом (Lincoln, 1930), а для почвенных беспозвоночных с успехом применявшегося Ван дер Дрифтом (Drift van der, 1951). На определенном участке, равномерно обставленном ловушками (порядка 30), вылавливается, метится и выпускается определенное количество животных, после чего проводятся контрольные учеты и численность особей определяется по формуле

$$N = nM/mS,$$

где N — численность особей на участке; n — число пойманных в ходе контрольных учетов немеченых особей; M — общее число меченых особей; m — число пойманных особей; S — площадь участка, облавливаемого ловушками.

Для мечения объектов (крупных стафилинид и жужелиц) Ван дер Дрифт применял спиртовой раствор шеллака или ампутацию части надкрылий, которая, по его мнению, не сказывается отрицательно на состоянии насекомых. Жуков метят также нитролаками и нитрокрасками с помощью стеклянного капилляра и прокалыванием надкрылий. Мечение красками удобно, поскольку позволяет использовать разные цвета и применимо даже для стафилинид с их небольшими опушенными надкрыльями. Такие метки надежно держатся в течение двух-трех недель (в лабораторных условиях сохранялись, пока жуки не погибали от естественных причин; в природе меченые жуки встречались спустя 1,5—2 мес после мечения, однако число их в ловушках после двух-трех не-

дель учета начинало закономерно убывать), что достаточно для проведения трех-четырех последовательных учетов. Однако с неопущенных надкрылий жужелиц и мертвоедов такие метки в природе быстро сходят, и для мечения этих жуков лучше применять ампутацию или прокалывание надкрылий, варьируя число и положение меток.

Метод мечения несколько менее трудоемок, чем метод исчерпывания, и позволяет использовать данные общего учета. Мечение и выпуск особей можно производить как до начала учета, так и по ходу его, меняя с каждым новым мечением цвет и положение метки. В качестве ловушек удобно использовать стеклянные банки объемом 0,6; 0,8 и 1 л. Пользоваться жестяными консервными банками (без фиксирующей жидкости) нежелательно, их стенки недостаточно гладкие и к тому же подвержены ржавению. Из более мелких сосудов многие беспозвоночные легко уходят, а большие банки неудобны при выборке материала. Уловистость полиэтиленовых банок меньше по сравнению со стеклянными. Мелкие насекомые способны вылезать из-за лучшего сцепления их лапок с поверхностью (Грюнталь, 1981). Ловушки необходимо защищать от дождя, поскольку в банках с фиксатором вода разбавляет фиксатор, а в банках без фиксатора — отчасти губит и мацерирует беспозвоночных, отчасти способствует их уходу из банок, поднимая животное ближе к краям и увеличивая его сцепление со стенкой за счет сил поверхностного натяжения. Балог (Balogh, 1958) рекомендует следующую простую крышку: прямоугольный кусок жести с отрезанными до половины и отогнутыми под прямым углом узкими полосками по краям, которые втыкаются в землю так, чтобы между крышкой и банкой оказался зазор 3—4 см. Однако в населенных местах любые крышки правильной формы привлекают к банкам внимание любопытных, поэтому лучше пользоваться кусками отмершей коры, подпертыми в одном-двух местах палочками.

Уловистость ловушек с фиксатором выше, чем пустых, так как мелкие насекомые способны уходить из пустых сосудов. Но отмечены различия в составе жизненных форм беспозвоночных, собранных в пустые ловушки и с фиксатором. Например, при учетах жужелиц в Московской области в пустых ловушках гигрофилы составляли 64%, а мезофилы — 36%; в ловушках с формалином или раствором поваренной соли гигрофилы составляли свыше

90% (Грюнталь, 1981). Поэтому при фаунистических исследованиях рекомендуется сочетать пустые ловушки и ловушки с фиксатором. В качестве фиксатора чаще всего используется 2—4%-ный формалин и (зарубежными авторами) этиленгликоль. Барбер (Barber, 1931) рекомендует для этой цели жидкость, состоящую из пяти частей поваренной соли, одной части селитры, одной части хлоралгидрата и 100 частей воды, которую он использовал в смеси с этиленгликолем или глицерином. По его данным, фиксирующие свойства этих смесей сохраняются в течение 6 мес. Основные требования к фиксатору следующие: 1) способность быстро убивать беспозвоночных в ловушке не причиняя вреда людям и домашним животным; 2) хорошие консервирующие свойства; 3) малая летучесть; 4) малое поверхностное натяжение; 5) отсутствие привлекающего или отпугивающего животных запаха; 6) сохранение консервирующих свойств при разбавлении водой. Формалин удовлетворяет почти всем этим требованиям и легко доступен, однако обладает дубящими свойствами — вымывая жиры, он уменьшает эластичность покровов собранных животных. Этиленгликоль (главная составная часть одного из антифризов) немного хуже по большинству рассмотренных показателей, но не имеет дубящих свойств и безвреден.

Использование приманок увеличивает субъективность и относительность учета, поскольку их запах действует по-разному на разные группы беспозвоночных. Например, запах гниющего мяса привлекает многих мертвоедов (*Necrophorus*) и некоторых стафилинид (*Stenophilus*) с большого расстояния, ряд жужелиц и стафилинид — лишь с небольшого, а многие беспозвоночные не привлекаются или даже отпугиваются им. Несмотря на это, ловушки с приманками используются в тех случаях, когда почему-либо выгодно повышение уловистости определенного вида (например, при изучении сезонной или суточной активности, при массовых сборах для мечення и т. д.). В качестве приманок часто используют гниющее мясо, рыбу, сыр, бродящие сладкие продукты, иногда синтетические приманки.

Балог (Balogh, 1958) рекомендует различные способы изоляции приманки от содержимого банки, что особенно важно при работе с фиксирующими жидкостями. На практике необходимость сочетать приманку и фиксирующую жидкость возникает редко. Обычно привлекающее действие приманки достаточно, чтобы удержать около

нее большую часть собранных животных, а уходом части их (при использовании стеклянных банок незначительной) можно пренебречь, так как учет все равно не абсолютный. Можно поместить в банку кружок проволочной сетки с ячейками 3—4 мм, чтобы защитить приманку и мелких беспозвоночных от поедания крупными, а чтобы они меньше повреждали друг друга,— на сетчатую прокладку насыпать немного сухих листьев или стружки.

Банки нужно вкапывать так, чтобы их края приходились вровень с поверхностью почвы, отгребая рыхлую подстилку, чтобы их не заливала вода, стекающая по склону или собирающаяся в понижениях. Размещать банки на участке можно лишь в линию, равномерно на площади и т. д. Число банок и расстояние между ними может быть различным в зависимости от возможностей и задач опыта. Однако в каждом биотопе нужно иметь не менее 10 (а при попытке рассчитать абсолютную численность не менее 30—40) ловушек. Банки с пахучей приманкой нецелесообразно размещать ближе 20 м друг от друга.

В качестве ловчих канавок Балог (Balogh, 1958) рекомендует глубокие траншеи с наклонными внутрь стенками, суживающиеся к концу до ширины помещенной там банки. Животные, попавшие в траншею, двигаются вдоль стенки, обходя траншею по периметру, и в конце концов попадают в банку. Для крупных тяжелых животных этот метод приближается к абсолютному учету динамической плотности, однако большинство беспозвоночных легко уходит по земляным стенкам, а изготовление и поддержание таких траншей, особенно в сыпучем грунте, весьма трудоемко. То же относится к рекомендуемым К. К. Фасулати (1971) ловчим ямам без банки примерной площадью 0,25 м² и глубиной 30 см. Поэтому для относительных учетов можно пользоваться канавками, подобными тем, которые применяются для учета мелких зверьков. Принцип действия такой канавки основан не на невозможности для животных преодолеть ее, а лишь на их стремлении двигаться по наиболее удобному пути. Канавки для беспозвоночных могут быть мельче и короче, чем для грызунов, достаточно глубины 7—10 см от поверхности почвы (но не подстилки) и такой же ширины. Нельзя использовать широкие (особенно мелкие) канавки, поскольку их микроклимат (режим влажности и инсоляции) резко отличается от окружающей подстилки, что отпугивает многих беспозвоночных.

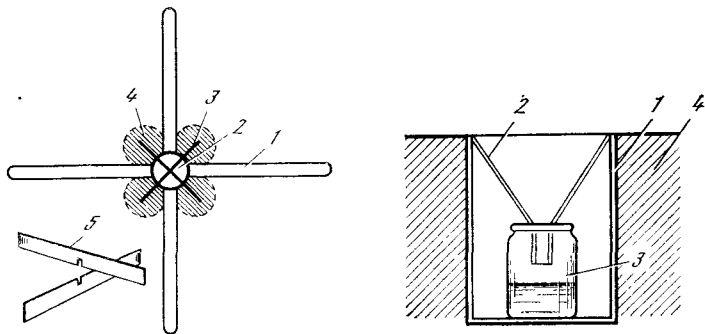


Рис. 7. Крестообразная ловчая канавка (схема) (Тихомирова, 1975)

1 — схема канавки; 2 — банка; 3 — крестовина из реек; 4 — кучки почвы; 5 — устройство крестовины

Рис. 8. Двойная банка с воронкой (Тихомирова, 1975)

1 — наружный цилиндр; 2 — воронка; 3 — банка с фиксирующей жидкостью; 4 — стенки канавки

Длина канавки может быть различной, но нерационально делать ее больше 3—4 м. Стенки должны быть вертикальными (особенно на концах) или очень слабо наклонными, как и дно, ровными и гладкими, без пустот и щелей. Канавку нужно постоянно подновлять, очищая от листьев, осыпающейся земли и т. д. Удобны крестообразные канавки длиной 1 м с банкой в месте пересечения. Нужно следить, чтобы стенки канавки обрывались непосредственно в банку и ее нельзя было обойти по краю. Этот момент очень важен, и невнимание к нему может снизить результаты учета в несколько раз. В сыпучем грунте нужно укрепить стенки над банкой дощечками или кусками коры, в крестообразные канавки удобно вставлять крестовину из тонких реек (рис. 7), концы которой, оказавшиеся в промежутках между канавками, присыпаются грунтом. Канавка должна быть расположена так, чтобы по ней в банку не стекала дождевая или грунтовая вода и часть канавки с банкой была чуть выше остального дна. Чтобы не повреждать стенки канавки при выборке материала, удобно закапывать в канавки двойные банки с воронкой (рис. 8). При этом наружная банка или даже цилиндр (без дна) из жести, пластмассы, стекла и т. д. должен точно соответствовать диаметру воронки. Воронка должна иметь крутые гладкие стен-

ки и широкую трубку. При наличии подходящего размера химических стаканов (без носика) для внутренних емкостей можно обойтись и без воронок. Нужно следить, чтобы между краями наружной емкости и воронки или стакана не было зазоров, через которые беспозвоночные могли бы попасть во внешний цилиндр.

Содержимое банки (без фиксатора) встряхивают по частям в кювету и выбирают животных пинцетом и эксгавстером. При работе с фиксатором удобно иметь с собой лишнюю пустую банку с металлическим кольцом по наружному диаметру горла и кусок мельничного газа. Содержимое ловушки выливается на мельничный газ, прижатый к горлу свободной банки кольцом, после чего фиксатор сливается обратно в ловушку, а животные собираются с мельничного газа.

ГЛАВА 2

Учет микроартропод (микрофауна)

Под микроартроподами здесь понимаются преимущественно такие членистоногие, которые обитают в полостях почвы, заполненных воздухом, обычно имеют размеры 0,2—2 мм в длину. Они принадлежат большей частью к клещам, аптериготам Symphyla и Paucipoda. Кроме того, мелкие личинки других групп — многоножек, мокриц и насекомых (особенно жуков) — могут быть отнесены к размерной группе микроартропод. После Берлезе (Berlese, 1905) и Туллгрена (Tullgren, 1917), которые разработали основные принципы «автоматической выборки» этих очень чувствительных групп животных, предложено едва ли обозримое количество методик. Все они имеют тот недостаток, что отвлекают от попыток прямых наблюдений в почве и дают мнимую точную информацию о плотности микроартропод. Следует, кстати, отметить, что разные модификации этого метода рассчитаны на разные группы микроартропод.

Для выяснения характера распределения микроартропод в почве в природных местообитаниях и для фаунистических целей используют данные непосредственных сборов.

Прямые наблюдения и сбор отдельных микроартропод в природных местообитаниях утомительны и трудо-

емки. При этом используются либо маленькие эксгаустеры, либо кисточка, смоченная спиртом. Животные отлавливаются живыми, либо для специального препарирования фиксируются 70—80%-ным спиртом и так хранятся.

При фаунистических исследованиях или обследовании почв на заселенность микроартроподами, как правило, проводится отбор почвенных проб на исследуемых участках, а затем в лабораторных условиях — извлеченные животные из почвы.

Прямое извлечение животных из почвенной пробы под биноклем (Сент-Илер, 1938) очень трудоемко и требует много времени, поэтому применяется в исключительных случаях, чаще для проверки других методов, хотя оно может дать важную информацию (Гиляров, 1941; Forsslund, 1948). В настоящее время используется метод приготовления почвенных срезов из проб, замороженных и пропитанных склеивающими препаратами. Однако наиболее принята автоматическая экстракция микроартропод.

Эффективность методов экстракции зависит от способа взятия проб, их транспортировки, свойств почвы или другого исследуемого субстрата, содержания органического вещества и его физико-химических свойств, особенностей биологии исследуемых животных и, наконец, от работоспособности исследователя, лабораторного оборудования и тщательности работы. Всякий раз необходимо выбирать наиболее пригодную модификацию метода в зависимости от целей работы, природных особенностей исследуемого биотопа и рабочих возможностей. Количественная оценка эффективности методов основана на том, что в пробе заранее известно количество микроартропод, которое может затем быть проверено данным методом. Исходя из этого возможны два способа проверки: либо в стерилизованную пробу почвы вносят известное число живых микроартропод и затем сравнивают результат автоматической выборки («обратное изъятие»), либо проводят параллельную выборку «оптимальными» методами. В качестве последних используют (но необязательно) методы интенсивной флотации или ручную выборку под препаративным микроскопом. Однако все эти способы проверки эффективности сами чреваты ошибками. Абсолютных критериев для количественной характеристики эффективности метода не существует. Эффективность широко распространенных «адекватных» мето-

дов колеблется в пределах 10—90% (Takeda, 1979). Высокие показатели эффективности достигаются лишь тогда, когда перед началом исследования проводится детальная проверка всех условий, и метод, выбранный для работы, наиболее оптимален для них.

Наконец, следует учитывать, что точность определения численности животных одного и того же вида на разных стадиях развития в разные сезоны при применении одних и тех же методов (особенно динамических) может сильно различаться. Так, Такеда (Takeda, 1979) при сравнении результатов учета коллембол из почвы хвойного леса градиентным экстрактором и ручной выборкой установил, что эффективность учетов экстрактором составляет в июне 27%, а в декабре — 80%. Для отдельных видов эти различия иногда еще шире. Например, для *Tullbergia yosii* в июле полнота выгонки 11%, в декабре — 25%, для *Folsomia octoculata* в июле — 34%, в декабре — 97%. К тому же Такеда смог показать, что у *F. octoculata* на первой, второй и третьей стадиях развития эффект того же фактора возрастает при экстракции от 1,5 до 2. У *T. yosii* даже вторая стадия извлекается в 10 раз лучше, чем первая. Это свидетельствует о том, что уровень активности, стадия развития, фаза личиночного цикла и, вероятно, также степень готовности к размножению — важные факторы, влияющие на эффективность динамических и механических методов экстракции. Тот же автор четко показал также, какая затрата времени необходима для «идеальной» ручной разборки под бинокуляром: для каждой отдельной почвенной пробы весом в 5 г требуется 8—14 ч ручной разборки¹. К тому же следует учитывать влияние указанных выше факторов на результаты выборки, так что в целом оказывается невозможным рассчитать «фактор выравнивания» для определенного метода, что позволило бы провести пересчет результатов выборки на реальную плотность популяции животных, во всяком случае, достоверность этих соотношений не очень точно установлена и рассчитана.

В заключение можно сказать, что уровень технической оснащенности и биологического осмысления процесса экстракции микроартропод из почвы, несмотря на интенсивную методическую разработку в последние деся-

¹ Естественно, что этим методом нельзя проанализировать столько проб, сколько необходимо для определения численности микроартропод на участке.

тилетия, еще далеко не совершенен. Остается необходимость возможно более узкого и конкретного определения задач исследований и ожидаемых результатов до начала обработки материала, апробации известных методов на исследуемом материале, и лишь на основе сравнения результатов возможен выбор наиболее подходящего метода: кроме того, необходима проверка соответствия ожидаемых результатов возможностям избранного метода (т. е. в большинстве случаев — новые ограничения при выборе метода).

Отбор почвенных проб при учете микроартропод

Отбор проб субстрата в природе и их обработка в лаборатории — наиболее распространенный и преобладающий метод учета микроартропод. Для качественных исследований достаточно пробы субстрата (почва, подстилка, мох и т. д.) отбирать вручную (Dunger, 1977). Объем проб не должен быть слишком малым (опасность высыхания при транспортировке), пробы должны храниться в пакетах или сосудах с достаточным запасом воздуха в прохладном месте. При 5° они могут лежать неделю до обработки и, как правило, без ущерба для микроартропод.

Для количественных учетов численности животных необходимо брать пробы определенного объема. Лишь в особых случаях (например, в болотной почве) предпочтителен расчет на сухой вес субстрата, определяемый после выгонки животных. Описаны различные конструкции почвенных буров — для отбора образцов почвы на всю мощность почвенного профиля, образцов с ненарушенной структурой почвы. Для плотных почв наиболее удачен бур Граковского и Исакова (1975), позволяющий отбирать образцы почвы с ненарушенной структурой, большой высоты. Общие требования для почвенных буров состоят в том, что почва при взятии образца не должна подвергаться толчкам или спрессовыванию, т. е. чтобы давление при бурении приходилось на наружный край почвы и почва по возможности легко бы разрезалась.

Количество проб в одном участке определяется целями исследования, плотностью и характером распределения животных, а также рабочими возможностями; для часто встречающихся клещей или коллембол достаточно просмотреть 20—25 параллельных проб на одном участке в один срок. Минимальная величина проб лимитиру-

ется относительно возрастающей площадью нарушенной зоны (отношение длины линии границы к общей площади пробы); при применении буров с радиусом отверстия меньше 1 см на микроартроподах сильно сказывается травмирующее действие режущего края бура или его стенок.

Буры с радиусом отверстия 5 см или более не могут эффективно использоваться в сухих песчаных почвах, так как они не могут удерживать почвенную массу. Вопрос о разделении почвенных горизонтов при исследованиях и глубине проб для учетов микроартропод нужно решать отдельно для каждого местообитания в ходе предварительных исследований. Для изучения годовой динамики популяций микроартропод необходимы учеты с промежутками через 2—4 недели, что определяется характером развития животных. Здесь следует учитывать активность вертикальных миграций животных между отдельными почвенными горизонтами, между почвой и растительным покровом (*Entomobrya nivalis* обитает, например, зимой в почве, а летом — на коре деревьев в области кроны).

Метод почвенных срезов. Прямые наблюдения над почвообитающими животными *in situ* очень ценны для решения многих вопросов. Лучший способ для этого — фиксация — глубокое промораживание всей почвенной пробы (возможно быстрее после ее извлечения из почвы) и последующая препаровка этой пробы на срезы. Для этого рекомендуется пропитка агаром (Haarlov, Weisfogel, 1953) или желатином (Minderman, 1956; Anderson, Healey, 1971). Систем с сотрудниками (Seastedt, Kothari, Crossley, 1980) упростил метод следующим образом: место, откуда предполагается взять пробу, покрывают сухим льдом на несколько минут для иммобилизации животных на поверхности почвы. Затем проба (примерно 5×5 см) вынимается обычным буром, в котором используется вставное кольцо (рис. 9). Вместо вставного кольца используется соответствующего размера кольцо из проволочной сетки (диаметр ячеек около 1 мм), которое скреплено лишь эластичной лентой и тесно прижато к внутренней стенке бура. Его предназначением является удержание пробы во время заливки. Необходимо сложить подстилки и грубого гумуса пробуривать так, чтобы бур лишь насаживался на субстрат и разрезал его острым краем по кромке и чтобы при этом почвенная проба не спрессовывалась под давлением незаточенного края. После взятия почвенную пробу снизу и сверху закрывают

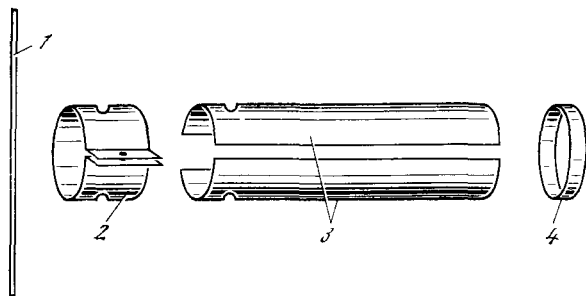


Рис. 9. Почвенный бур со вставным кольцом (О'Соппог, 1957)

1 — стержень; 2 — сетчатый цилиндр для пробы; 3 — бур; 4 — скрепляющее кольцо

проволочными крышками, заворачивают в алюминиевую фольгу и сразу же помещают на сухой лед. Через несколько часов пробу можно доставить в лабораторию, где ее кладут в холодильную камеру с глубоким промораживанием. Для пропитки используется 20% -ный раствор желатина. Для этого растворяют гранулированный желатин в теплой воде и заливают в инкубатор при 45° С. Почвенные пробы согревают до комнатной температуры и помещают в широкогорлые сосуды. Горячий раствор желатина следует осторожно вливать в них по стенке. Во избежание разбавления его почвенной влагой нужно брать 3-кратный объем раствора по отношению к объему почвенной пробы. Залитые желатином почвенные пробы закрывают просверленными пробками и снова помещают в инкубатор. В отверстие пробки вставляют шланг вакуумного насоса и медленно (в течение 15 мин) создают в сосуде давление 20 мм рт. ст. В течение часа давление поднимают в 4 раза, а затем столь же медленно возвращают к прежней величине, чтобы осторожно, но возможно полнее удалить пузырьки воздуха из теплой почвенно-желатиновой массы. Затем пробы оставляют в инкубаторе на всю ночь при постоянном давлении. На следующий день пробу снова охлаждают, чтобы желатин затвердел, и затем дубят 10% -ным формалином. Этот процесс длится по меньшей мере 5 дней.

Для разрезания почвы используют маленький станок для резки бумаги с ножом из закаленной стали. Почвенная проба освобождается от проволочной сетки, вставляется в легкодвигающееся кольцо, прикрепленное к режу-

щей плоскости станка и сзади с помощью винта проталкивается в соответствующем направлении к резаку. По числу поворотов винта можно точно отмерить дистанцию продвижения пробы и таким образом регулировать толщину среза. С помощью этого устройства возможно делать срезы в 1 мм толщиной. Крупные камешки предварительно вынимают пинцетом. Нож нужно постоянно подтачивать, чтобы срезы были аккуратными. Срезы помещают в чашки Петри с водой и исследуют под препаратным микроскопом. Из одной пробы толщиной в 5 см можно сделать 25 срезов. Для просмотра 25 проб требуется около 8 ч. Это показывает, что данный метод пригоден для специального исследования характера распределения микроартропод, их экзувиев и фекалий и их пространственных взаимодействий с грибами, но для количественных учетов микроартропод в почве практически не используется. На срезах нередко трудно отличить экзувии от животных, которые были живыми в момент взятия пробы.

Динамические методы экстракции микроартропод

Для получения больших серий микроартропод и определения количества микроартропод в почвенных пробах используют динамические методы экстракции животных из почвы, основанные на особенностях их поведения, реакциях привлечения или отпугивания. В частности, они основаны на том, что у микроартропод при определенных условиях проявляется отрицательный или положительный геотаксис. Решающие факторы передвижения, которые приводят к уходу животных за пределы почвенной пробы,— иссушение и высокая температура, свет или химические воздействия. Ко всем этим факторам различные виды устойчивы в неодинаковой мере. Поэтому ни один из этих методов не может быть одинаково эффективен для всех видов микроартропод. Высыхание почвы стимулирует многие виды, например орибатид, к проявлению реакции положительного геотаксиса, особенно при очень высоком значении rF —4,2—5. Температура ниже 10° подавляет эту реакцию, а при температуре выше 30° у большинства видов проявляется тенденция к уходу из пробы и при достаточной влажности (Vannier, 1970). Для характеристики воздействия света до сих пор нет количественной оценки. Основной задачей динамических методов является создание такого градиента указанных

факторов, который бы заставил микроартропод покинуть почвенную пробу.

Простой «экстрактор Туллгрена» состоит из воронки, над которой укреплено проволочное сито с почвенной пробой, а под которой — сосуд-приемник (стеклянная пробирка) со спиртом. Над воронкой укрепляется электролампа, нагревающая и высушивающая почвенную пробу сверху (рис. 10). Могут использоваться несветящиеся источники тепла (нагревательные спирали, инфракрасный излучатель и т. п.). Нагревание поверхности пробы не должно вначале превышать 20—30°, т. е. тепловой градиент должен быть постепенным и по возможности константным в направлении сверху вниз. При охлаждении воронки снизу разница температур увеличивается, однако градиенты более 20—30° трудно достигаются и они эффективны не для всех групп микроартропод. Таким же образом влияет высыхание почвы. Так как многие виды покидают пробу при сосущей силе почвы $rF=4.7$, рекомендуется проводить процесс экстракции в течение четырех—семи дней (в зависимости от материала). Четкий гидротермический градиент устанавливается в почвенных пробах толщиной минимум в 2 см. С другой стороны, он вряд ли может установиться в короткий срок в слое почвы свыше 5 см. Поэтому толщина пробы должна быть в пределах 2—5 см.

Нельзя однозначно для всех почвенных разностей установить, что лучше: раскрошить почвенную пробу при закладке на сито либо оставить ее исходную структуру. Так как размельчение почвы всегда приводит к травмированию части микроартропод, очевидно, предпочтительнее оставить ненарушенную структуру пробы (в том числе воздушные ходы!). Влажная глинисто-суглинистая почва не рассыпается, а в легких песчаных почвах и без размельчения остается достаточно почвенных ходов для продвижения животных. Так как большей частью гумусированный верхний почвенный слой более плотно заселен, то при перевертывании почвенного монолита на воронке экстрактора (т. е. при помещении ее на воронку поверхностью вниз) внизу открывается наиболее короткий путь для выхода большинства животных. Животные должны иметь возможность беспрепятственно покидать почвенную пробу. Поэтому лучше использовать сита с большим сечением отверстий (3—5 мм). Но в пробах мелкозернистых почв по мере высыхания возрастает поток почвенных частиц, падающих в отверстия сита, что

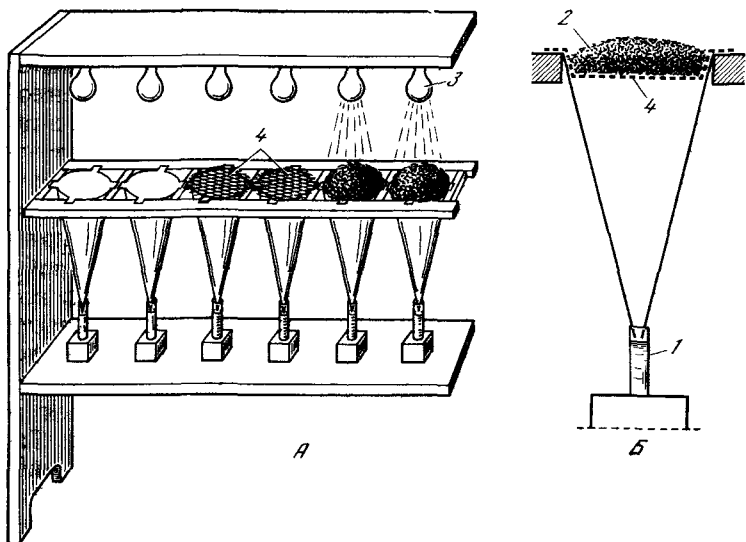


Рис. 10. Простой аппарат Туллгрена

А — ряд воронок; Б — отдельная воронка 1 — сосуд приемник; 2 — почвенная проба; 3 — лампа накаливания; 4 — сито

уменьшает эффективность экстракции. При учетах мелких форм можно использовать сита с диаметром отверстий 1,5—2,5 мм.

Материал, из которого делаются контейнер для проб и воронка, не должен проводить тепло и влиять на установление температурного градиента. Испаряющаяся из почвенной пробы вода также не должна конденсироваться на стенках воронки, так как животные могут задерживаться на них, не достигая приемника. Для быстрой фиксации микроартропод необходимы эфир или другие летучие соединения, но они могут негативно воздействовать на процесс выгонки животных у нижнего края пробы. Опыт показал, что 70°-ный спирт не вредит процессу экстракции, а применение дистиллированной воды или пикриновой кислоты, наоборот, снижает ее показатели. Из-за низкой проницаемости покровов у многих микроартропод животные часто задерживаются на поверхностной пленке спирта и плохо фиксируются. Поэтому рекомендуется применять изопропиловый спирт (Tögne, 1965), так как у него величина поверхностного натяжения меньше. Для предотвращения испарения спирта из приемни-

ка к 70°-ному спирту добавляют 5% глицерина. Хранение микроартропод при обычных экологических исследованиях рекомендуется в 70—80°-ном спирте.

В сосуд-приемник попадают не только микроартроподы, но и другие животные из пробы, органические и минеральные частицы почвы, которые могут просыпаться через сито. Степень загрязнения приемника снижается при установке экстракционного аппарата в полной неподвижности при предварительном удалении крупных животных (жужелиц, дождевых червей и пр.) из пробы перед ее закладкой на сито.

Однако остается проблема отделения собранных животных от почвенных частиц. Это наиболее тщательно проводится вручную под биноклем с помощью кисточки, очень гонкой проволочной петелькой или (после тренировки) очень тонким (особым образом отшлифованным) пинцетом из пружинной стали. При этом можно сразу же разделить материал на большие группы микроартропод и других животных и подсчитать количество особей в каждой группе.

Так как этот процесс очень трудоемок, многие авторы пытались провести механическое разделение содержимого сосудов-приемников. Для этого применяли встряхивание содержимого в жидкости определенной плотности с удельным весом около 1,3 (например, раствор хлорида бария) для отделения более тяжелых минеральных частиц. Отделение самих животных проводится по принципу, описанному ниже в разделе механических методов. Все эти формы обработки, однако, сами требуют много времени и чреваты возможностями потери некоторых животных (особенно с нежными покровами) и травмирования их покровов; это затрудняет приготовление просветленных микроскопических препаратов для таксономических определений. Следует также решить в зависимости от задачи исследования и степени загрязнения материала, целесообразна или нет механическая очистка содержимого приемника. Хорошо проверенная методика описана, например, у Башелье (Bachelier, 1978).

Для простых воронок Туллгрена (рис. 11) в качестве источника тепла и света используются электролампочки, которые должны быть прикреплены не ближе чем на высоте 25 см над почвенной пробой. Имеет смысл регулировать интенсивность освещения так, чтобы полная мощность освещения и обогрева достигалась в конце выгонки. Каково должно быть влияние освещения, лучше

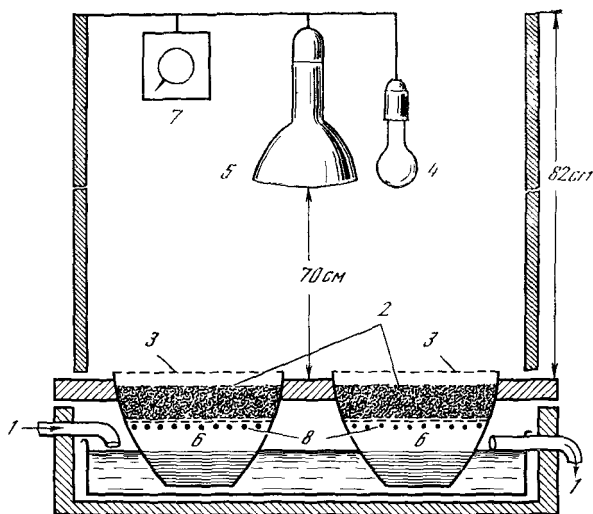


Рис. 11. Инфракрасный экстрактор Кемпсона

1 — водяное охлаждение, 2 — почвенные пробы; 3 — покрывное сито; 4 — лампа накаливания 100 W, 5 — инфракрасная лампа 250 W; 6 — сосуд-приемник с раствором пикриновой кислоты; 7 — распределительное реле; 8 — сито (\varnothing 1 мм)

всего определить таким образом: температура верхней поверхности почвенной пробы вначале должна достигать 25°C , а в конце 40°C или выше. Сита должны быть сделаны из нержавеющей материала и так укреплены над воронками, чтобы между ними оставалась воздушная щель для предохранения от конденсации воды. Воронки делают из любого гладкого материала, например из гладкого картона, на котором не конденсируется влага. Воронки перед каждым употреблением следует хорошо очищать. Сосуд-приемник не должен иметь непосредственного контакта с воронкой, так как при снятии проб сквозь отверстия в сите может просыпаться высохшая почва при самом легком прикосновении, и при этом сильно возрастает степень загрязнения пробы. Между краем экстракционной воронки и приемником можно вставить маленькую стеклянную воронку.

Описанные простые воронки Туллгрена могут быть легко объединены в «экстракционную батарею». Но при креплении воронок друг над другом не должно происходить подогревания снизу верхнего ряда. Вороночные

экстракционные аппараты можно легко сконструировать и для экспедиционных, и для экскурсионных условий, как описано, например, М. С. Гиляровым (1949) и Балогом (Balogh, 1958).

Инфракрасный экстрактор Кемпсона (Kempson, Lloid, Ghelardi, 1963) (рис. 11) вносит два усовершенствования в процесс экстракции — регуляцию нагревания поверхности почвы и регуляцию охлаждения пробы снизу. Он состоит из открытого сверху ящика из прессованной фанеры, имеющего спереди дверцу для обслуживания. Ящик разделен на верхнюю, нагревательную часть и нижнюю, охлаждающуюся; обе части разделены пластиной, в которой проделаны точно подогнанные отверстия для лотков с пробами, вырезанные из нетеплопроводного материала (в оригинале диаметр их 12,5 см). Обычно экстрактор имеет двойной ряд лотков для проб, в целом около 20. От нагревателя пробы отгораживаются газовой сеткой, препятствующей уходу животных вверх. Дно лотков для проб представляет пластмассовую сетку с шириной отверстия 1 мм или более, если это необходимо. Непосредственно к ним с помощью резиновой манжетки прикрепляются сосуды-приемники в форме суживающейся чашечки с насыщенным водным раствором пикриновой кислоты или трифосфата натрия ($80 \text{ г Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ на 1 л воды). Следует помнить, что почвенная проба должна полностью покрывать дно лотка, или открытые края следует чем-то покрыть, чтобы воспрепятствовать воздушному и тепловому обмену между нагреваемой и холодной частями аппарата. Струя водопроводной воды охлаждает приемник снизу. Облучение проб осуществляется одной или несколькими инфракрасными лампами (250 Вт) в комплексе с обычными лампами в 100 Вт. Необходимо распределительное реле, чтобы постоянно были включены либо инфракрасные, либо обычные лампы. В начале экстракции смена источников освещения должна происходить через несколько секунд, через 3 дня ритм замедляется и под контролем контактного термометра сдвигается в сторону инфракрасного облучения, а после 6 сут (и до конца 8-го дня) нагревание ведется лишь инфракрасным светом. На поверхности почвы устанавливается температура около 70°C . Преимущество метода состоит в медленном постепенном нагревании сверху и охлаждении и некотором увлажнении пробы (благодаря водному раствору жидкости в приемнике) снизу.

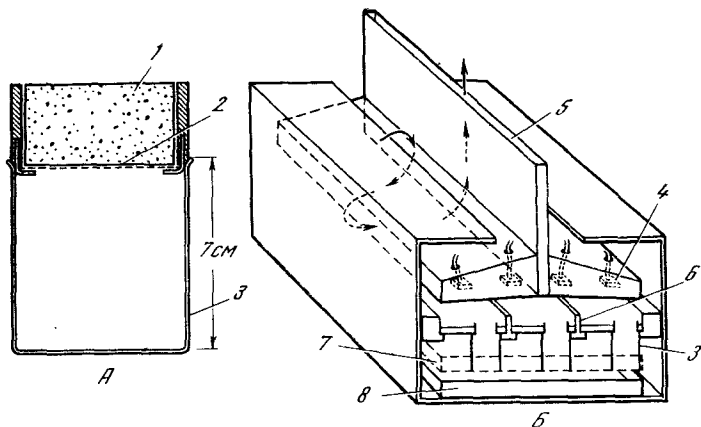


Рис. 12. Высокоградный экстрактор Макфедьена

А — отдельный алюминиевый сосуд; *Б* — общий вид экстрактора. 1 — почвенная проба; 2 — сито; 3 — сосуд для проб; 4 — керамические изоляторы для нагревательного элемента; 5 — вентиляция; 6 — подставки для отдельных сосудов; 7, 8 — водяная ванна

Высокоградный экстрактор Макфедьена (Macfaedyn, 1961, 1962; Block, 1966; Dobrowski, Niedbala, Rajski, 1976) (рис. 12) основан на тех же принципах, что и инфракрасный экстрактор, но температурный градиент достигает при толщине пробы в 3 см от 12 (через 24 ч) до 70° (через 3 дня); при этом поверхность почвенной пробы нагревается до 120° С, а нижняя поверхность — до 50° С. Для нагрева используются либо изолированная керамикой нагревательная спираль, либо электролампы, которые могут через регулируемый реостат обеспечить в течение 3 дней необходимый нагрев; при этом тепловой эффект регистрируется контрольным термометром на верхней поверхности почвенной пробы. Почвенные пробы помещают сразу на лоток для проб и, перевернув (верхней плоскостью вниз), закладывают на экстрактор. Размер проб должен быть около 4 см в диаметре и 3 см толщиной. Большинство экстракторов вмещают от 18 до 32 проб (в трех параллельных рядах). Лотки для проб и сита вмонтированы в разделительную пластинку между нагреваемой и охлаждаемой частями (в данном случае сделанную из асбеста). Лоток для проб тесно прижат резиновой манжеткой к приемнику, заполненному дистиллированной водой (иногда с добавлением детергентов),

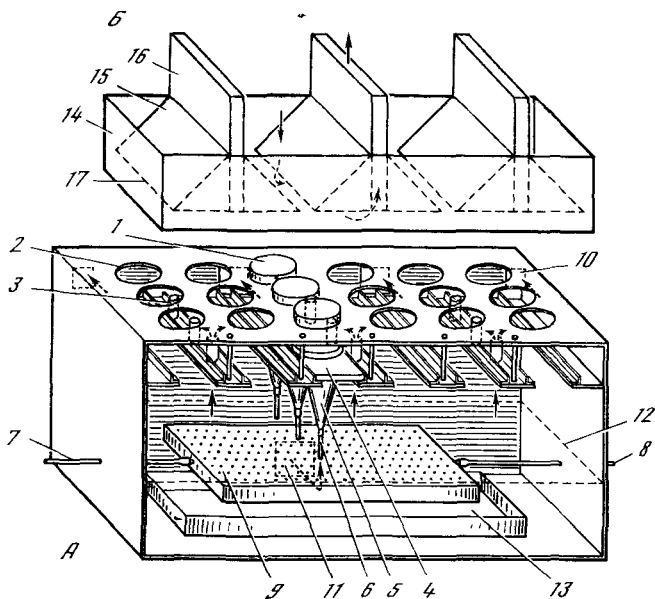


Рис. 13. Климатизированный экстрактор Макфедьена

1 — отделение для воронок со снятой передней стенкой; Б — нагревательная часть. 1 — металлический пробник, который входит в отверстие верхней крышки (2); 3 — воздушная трубка; 4 — выступающая наружу часть деревянного держателя для воронок (5); 6 — приемник; 7, 8 — трубки водяного охлаждения (9); 10, 11 — воздушные трубки; 12 — опорная пластинка воздушного охлаждения; 13 — водяная баня для увлажнения воздуха; 14 — гальванизированные рамки нагревательных частей; 15 — алюминиевый нагревательный кожух с вентиляцией (16); 17 — воздушный подвод к кожуху нагревательного элемента

либо растворами, специально используемыми для инфракрасных экстракторов. Для охлаждения приемника используется водяная ванна (рис. 13). Высокоградиентный экстрактор особенно пригоден для учета мелких микроартропод и ориентирован на максимальное использование перепада температуры.

Климатизированный экстрактор Макфедьена (Macfadyen, 1961, 1962; Edwards, Fletcher, 1971) позволяет дополнительно регулировать влажность воздуха в камере под почвенной пробой (рис. 13). Нагревательная часть в целом сконструирована так же, как в высокоградиентном экстракторе. Лотки для проб (здесь требуется больший размер проб, например 10 см в диаметре и 5 см толщиной) не прижимаются плотно к приемнику, они поме-

щаются на воронку таким образом, чтобы воздух мог циркулировать между воронкой и ситом лотка (но не в нагреваемой части!). К каждой экстракционной воронке крепится стаканчик с 70°-ным спиртом. Принцип работы состоит в том, чтобы создать воздушный поток в области приемника, который (в первые 5—7 дней процесса экстракции) сохраняет константные условия — примерно 85% относительной влажности воздуха и температуру 10° С; в нагреваемой части у верхней поверхности почвенной пробы поддерживается температура около 45°. Лишь в последние дни процесса экстракции увлажнение воздуха в нижней части аппарата прекращается и процесс заканчивается. Для создания тока воздуха рекомендуется использовать вентилятор (рис. 5). Поддерживать определенную влажность воздуха можно с помощью распылителя. Охлаждение достигается, например, с помощью холодильника с проточной водой. Конструкция климатизированных экстракторов направлена на то, чтобы воспрепятствовать высыханию почвенной пробы снизу, так как микроартроподы при высыхании могут остаться внутри пробы.

Существуют другие динамические методы экстракции. Идея Вальпаса (Valpas, 1969) — поместить внутрь почвенной пробы источник тепла — недостаточно разработана (Нийта, 1972). Маленький проволочный нагреватель приблизительно такой же длины, как толщина почвенной пробы, вводится заостренным концом перпендикулярно в пробу, после чего проба помещается в лоток из проволочной сетки (вскоре после изъятия ее из почвенного бура). Затем проба свободно подвешивается над воронкой с сосудом-приемником и включается нагреватель. Основной принцип состоит в том, что микроартроподы уходят во все стороны из пробы по кратчайшим путям и попадают в воронку.

Применение методов химической экстракции микроартропод принципиально также возможно. Так, посыпание почвенной пробы парадихлорбензолом (при использовании простых экстракционных воронок) ускоряет выгонку некоторых микроартропод. В полевых условиях, даже если не используется нагревание, можно применять этот метод. О нужных концентрациях, а также об относительном количестве погибших животных из числа извлеченных в зависимости от возраста, состояния, видовой принадлежности данные отсутствуют. Вряд ли возможно использовать химическую экстракцию для сравни-

тельно-количественных и контрольных учетов. Во влажных суглинистых или глинистых почвах во время динамической экстракции лучше сохраняется необходимый постоянный градиент влажности и температуры в почвенной пробе. Однако эти почвы по мере высыхания сильно сжимаются, и при этом возникает нежелательный воздушный поток между нагреваемой частью экстракционного аппарата и приемником. В аппаратах Макфедьена или Кемпсона сито для таких почв удерживается широким массивным кольцом. Почвы с высоким содержанием грубого гумуса, а также торфяные почвы и подстилка — очень слабые проводники тепла; здесь нужный градиент устанавливается медленно и недостаточно равномерно, так что внутри пробы могут образовываться прохладные влажные островки, в которых остаются микроартроподы, а затем они погибают, не покидая пределы пробы. При отборе проб органические почвы создают большие трудности; часто не удается аккуратно разрезать грубые гумусовые частицы стенкой бура, так что животные, находящиеся у краев пробы, разрезаются или раздавливаются. Так как органические почвы содержат обычно большое количество животных, именно здесь большая ошибка выборки часто недооценивается.

Некоторые крупные микроартроподы, например *Entomobryidae* среди коллембол, *Diplura* или *Symphyla*, не полностью учитываются динамическими методами, так как они при обработке почвенной пробы легко травмируются; они не обладают типичной реакцией геотаксиса при нагревании и высыхании субстрата; для них характерны горизонтальные поиски. Для некоторых форм со специфическими особенностями поведения эффективна только ручная выборка.

Очень мелкие микроартроподы, которые медленно передвигаются и в результате приспособления к обитанию исключительно в почвенных полостях не совершают вертикальных миграций, также нередко неполностью извлекаются из почвы динамическими методами. К ним относятся *Opuchiuridae* (*Collembola*), *Paragoropa*, *Protuga*. Флотационными методами экстрагируют большое количество особей этих групп. Однако они находятся в таком состоянии, что невозможно определить их видовую принадлежность. В целом рекомендуется очень медленное нагревание почвенных проб и длительная процедура динамической экстракции. Для большинства коллембол (Healey, 1971) и клещей, особенно для *Prostigmata* и

Astigmata, не способных к всплыванию, а также для гамазовых и панцирных клещей рекомендуется использование градиентного экстрактора в качестве наиболее эффективного метода учета. Эдвардс и Флетчер (Edwards, Fletcher, 1971) дали сравнительную характеристику разных методов; они отметили, что климатизированный экстрактор Макфедьена, представляющий, правда, наиболее сложный прибор для автоматической выгонки, отличается наибольшей для большинства микроартропод уловистостью даже в сравнении с механическими методами учета.

Механические методы экстракции микроартропод

Механические методы экстракции микроартропод более точны, чем динамические. Однако они имеют ряд недостатков. Механическая выгонка требует много времени, трудоемка и мало пригодна для больших серий проб. Она требует более или менее громоздкого оборудования и вряд ли может использоваться при полевых или экспедиционных работах. При механической или химической обработке покровные структуры животных часто повреждаются, что затрудняет их определение.

Механические методы используют физические свойства микроартропод для отделения их от почвы, в основном удельный вес и проницаемость покровов. Лишь в редких случаях достаточно погрузить почвенную пробу в воду и встряхнуть ее для отделения, например, коллембол, обитающих в песчаных дюнах (Van der Kraan, 1971).

Методы промывания используются для почв, содержащих мало органического материала. Почвенная проба встряхивается в насыщенном растворе поваренной соли до тех пор, пока не разрушатся все почвенные комочки. Микроартроподы всплывают после осаждения минеральных частиц на поверхность раствора (вместе с органическими частицами) и могут декантироваться на тонком сите. Для верности эту процедуру повторяют. Если на сито положить фильтровальную бумагу (и пропустить воду через вакуумный фильтр), всплывающих животных можно легко собрать под биноклем с фильтровальной бумаги. Эдвардс и Флетчер (Edwards, Fletcher, 1971) предложили выделенных животных очищать от соли, промывая небольшими порциями воды в конических 500-миллиметровых колбах. Для этого используют ксилол, встряхивают закрытые колбы и затем содержимое их выливают в широкую чашку Бехера (1 л). Животные

концентрируются на границе между водой и ксилолом, откуда их легко выбирают тонкой металлической петлей.

Но простым встряхиванием почвенной пробы в растворе поваренной соли не удастся (за исключением песчаных почв) достаточно полно выделить микроартропод из почвенных агрегатов. Н. И. Иванов (1937) предложил использовать центрифугу. Мюллер и Наглич (Müller, Naglitsch, 1957) установили, что этот метод применим для полевых и луговых почв, а также для суглинков и черноземов: следует отбирать очень маленькие почвенные пробы, помещать их в закрывающиеся центрифужные пробирки объемом в 40 мл, заливать концентрированным раствором поваренной соли и ставить в качалку на 15 мин. Для лучшего отделения затем следует центрифугировать их в течение 3 мин при 1500 об/мин. Затем беспозвоночных, всплывающих на поверхность раствора, можно осторожно декантировать в коллекционной чашечке. Почвенный материал, оставшийся в центрифужной пробирке, снова подвергается той же процедуре. В третий раз всплывший материал содержит практически менее 10% от общего количества особей, собранных при двух первых процедурах. Перед фиксацией микроартропод следует отмыть от поваренной соли. Кроме того, микроартроподы с нежными покровами при встряхивании и центрифугировании обычно погибают; задубление покровов, однако, затрудняет приготовление пригодных микроскопических препаратов этих особей.

Необходимость более тщательного отделения животных от почвенных частиц привела к использованию метода флотации, основанного на принципе противотока, что дает лучший эффект разделения. Очень простой способ описал Башелье (Bachelier, 1978) (рис. 14). Почвенную пробу объемом в 200 см³ заливают дистиллированной водой до общего объема 400 мл и смешивают со 100 мл гексаметафосфата натрия (2,5%-ный раствор). Сосуд закрывают и в течение 24 ч несколько раз встряхивают для ускорения распада почвенных агрегатов. Затем этот раствор наливают в воронку экстракционного аппарата. Одновременно открывают водяной кран и пробку воронки, так что почвенная проба снизу пропитывается водой. Два водосливных шланга проводят воду из верхнего слоя вместе с всплывшим материалом и животными на сито диаметром в 25 см, которое должно быть столь тонким, чтобы даже самые мелкие из учитываемых животных не могли пройти через его отверстия (ширина отверстий

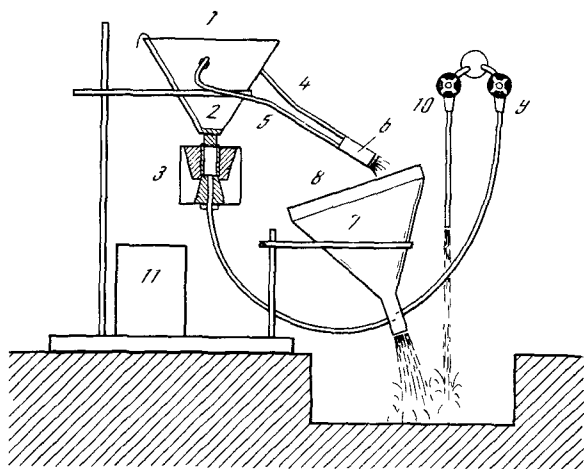


Рис. 14. Флотационная установка Башелье

1 — воронка для проб с пробкой (2) и зажимом для слива (3), 4, 5 — водосливы с общим мундштуком (6); 7 — воронка-приемник с ситом (8), 9, 10 — водопровод; 11 — сосуд для остатков песчаных проб после окончания флотации

40—80 мкм). Сначала кран приоткрывают лишь немного, а после отфильтрования коллоидальных частиц (осветление промывной воды) можно открыть струю сильнее. Сито ставят несколько наклонно, и струю воды направляют на верхнюю часть сита. Если есть опасность, что сито будет забито плотными частицами, нужно промыть его второй струей воды, более сильной и прямо направленной. Процесс промывания длится 5—10 мин; в конце сито приподнимают и ставят горизонтально, чтобы органические частицы и пойманные животные хорошо промылись. Затем воду закрывают, а содержимое сита переводят с помощью раствора бромида калия или бария с удельным весом 1,35 в отстойник. Здесь оставшиеся на сите мелкие частички осаждаются затем на фильтрах средней порозности, покрытых фильтровальной бумагой и вмонтированных в вакуумные сосуды. В процессе переноса и осаждения с некоторыми микроартроподами (особенно с коллемболами) возникают трудности в связи с тем, что они не смачиваются и плавают на поверхности. Несколько капель уксусного эфира повышают смачиваемость их покровов. Содержимое почвенной пробы легко просматривается под биноклем на фильтровальной бумаге, если там не слишком много растительных остатков. В этом случае может помочь окрашивание (прово-

дится опять же на фильтрах с фильтровальной бумагой): берут раствор 0,5%-ного метилгрюна с 1%-ной уксусной кислотой, оставляют в нем материал на 10 мин, отмывают 1%-ной уксусной кислотой и окрашивают затем фуксином (1 : 500 в 1%-ном растворе уксусной кислоты). Затем промывают дистиллированной водой, к которой добавлена 0,25%-ная уксусная кислота. Растительные остатки окрашиваются в интенсивный сине-зеленый цвет, а микроартроподы с не очень сильно хитинизированными покровами, яйца и цисты — в розовый. Таким путем можно использовать метод флотации и при высоком содержании растительных частиц.

«Классическая» процедура флотации требует основательной подготовки проб и наличия сжатого воздуха для взмучивания частиц. Она основана на методе Ладелля (Ladell, 1936) в более поздних модификациях (Salt, Hollick, 1944; Raw, 1955, 1962) (рис. 15). Для диспергирования почвенных агрегатов насыщенная водой почвен-

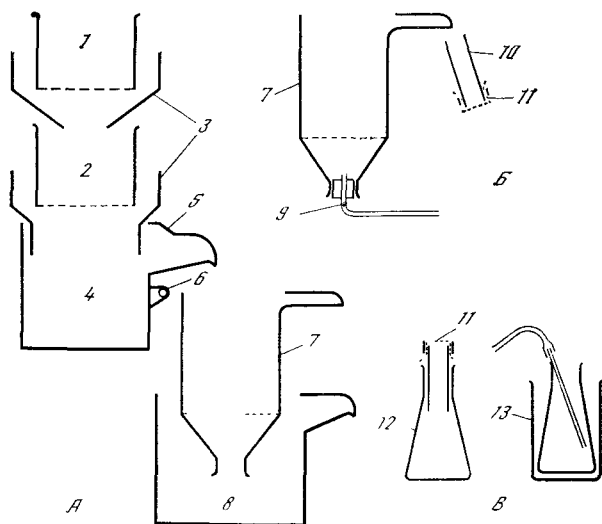


Рис. 15. Флотационная установка Солта и Холлика

1 — флотационные сита; Б — сита для заключительной стадии флотации; В — масляно-водяная флотация для отделения животных от растительных остатков. 1, 2 — крупное и мелкое сито с проводящими воронками (3); 4 — резервуар с длинным низкопосаженным носиком (5) и шарниром (6); 7 — сосуд с ситом; 8 — сосуд с водой; 9 — трубка для проведения воздуха во флотационный сосуд (7); 10 — стеклянные трубки с мельничным газом, прикрепленным резиновой муфтой (11). 12 — широкогорлая колба для масляно-водяной флотации; 13 — бехеровский стакан

ная проба глубоко промораживается (-10°) и в таком виде хранится до дальнейшей обработки. Далее растаявшую пробу промывают через два сита (рис. 15), из которых верхнее должно задерживать грубые частицы (ширина отверстий около 7 мм). Для нижнего сита ширина отверстий подбирается так, чтобы учитываемые группы животных обязательно могли пройти через них (например, 2,5 мм для большинства микроартропод). Материал, оставшийся на ситах, тщательно просматривается с целью выборки крупных животных. Материал из пробы, прошедший через отверстия сита, собирают промывной водой в отстойник, из которого в случае необходимости сливают воду в «сосуд Ладелля». Осажденные частицы пробы остаются в отстойнике. Сосуд Ладелля имеет внизу сливной патрубков и сито, у которого ширина отверстий (примерно 0,1—0,05 мм) подобрана так, чтобы учитываемые животные не могли бы пройти через них. Сосуд Ладелля вдвигнут в приемник водосливным краном, и уровень воды в приемнике устанавливается над самым ситом сосуда Ладелля. Избыток воды и взмученные частицы проходят через сито сосуда Ладелля и стекают в приемник, а суспензированные растительные остатки и почвенные животные остаются на сите. В зависимости от типа почвы и содержания органического материала этот процесс оказывается более или менее длительным и трудоемким. После окончания промывки на сите можно начинать флотацию. Воде дают стечь по каплям из сосуда Ладелля, затем закрывают отверстие патрубка просверленной пробкой, в которую вставлена двойная трубка (открываемая с помощью зажима). Через трубку заполняют сосуд Ладелля на $\frac{2}{3}$ флотационным раствором из запасного сосуда — обычно это концентрированный раствор сульфата магния (удельный вес 1,2). Затем трубку закрывают и через трубку в течение 2—3 мин пускают сжатый воздух для взмучивания материала во флотационном растворе, вследствие чего предотвращается прилипание животных к ситам. Наконец, перекрывая трубку (через которую поступает воздух), соединяющуюся с запасным сосудом, добавляют флотационный раствор в сосуд Ладелля, излишек которого вытекает через отводной кран и присоединенную к нему трубку. Эту процедуру необходимо проводить до тех пор, пока не будет уверенности, что все частицы, суспензированные на поверхности флотационного раствора, собраны в пробирку. Ее закрывают кусочком очень тонкой газовой ткани

(0,05 мм), туго схваченным резиновой манжеткой. Отсасыванием воды материал очищается от флотационного раствора. Животных, оседающих на кусочке газа, можно отобрать под бинокляром или лучше их вытряхнуть в смесь воды и ксилола и затем тонкой проволочной петлей выбирать из слоя между двумя жидкостями. Этот процесс следует многократно повторять. Можно также для предварительной обработки (диспергирование) пробы применять цитрат, оксалат или гексаметафосфат натрия (ср. с методом Башелье) либо можно комбинировать химическую обработку с вакуумной и глубоким промораживанием (Raw, 1955). В качестве флотационного раствора используют поваренную соль, бромистый калий или хлористый цинк. Эдвардс, Уайтинг и Хис (Edwards, Whitting, Heath, 1970) описали полностью автоматизированный метод промывания (см.: Murphy, 1962; Southwood, 1978). Если после отделения минеральной фракции почвы вместе с животными отмывается много растительного материала, особенно при исследовании торфяных почв, эффект отделения животных от органических частиц иного происхождения основан на разной проницаемости для воды покровов животных и растительных тканей. Частицы растительного происхождения в водных растворах пропитываются водой и тонут, а микроартроподы, покровы которых непроницаемы для воды, остаются на поверхности (рис. 16). Поэтому Хэйл (Hale, 1964) предложил промывание проб торфа объемом 35 см³ через ряд сит, из которых самое тонкое имело отверстие шириной в 1 мм. Этот процесс соответствует началу обработки методом Солта и Холлика и проводится с целью дробления комочков торфа и отделения грубых частиц. Промытый таким образом материал переносят в сосуд, имеющий форму эрленмейеровской колбы с короткой боковой трубкой объемом в 2 л, и доводят объем до 500 мл. Затем сосуд закрывают, присоединяют к вакуумному насосу и спускают давление до тех пор, пока вода не закипит при комнатной температуре. Для этого требуется 30 сек, затем сосуд присоединяют к аппарату, изображенному на рис. 15. В боковую трубку доливают столько воды через предохранительный кран, чтобы уровень воды в сообщающемся тубусе достиг метки. Так как на этом этапе еще многие коллемболы остаются живыми, более высокий уровень воды в тубусе нежелателен. Через вентилятор пускается воздух тонкими струйками (здесь может использоваться аквариумный вентилятор). Каждые

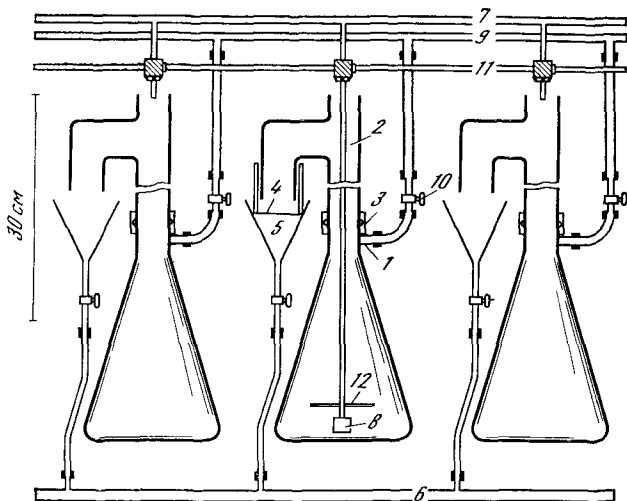


Рис. 16. Промывная установка Хейла

1 — сосуд с боковыми рукавами и тубусом (2); 3 — резиновое утолщение; 4 — проводящий рукав тубуса с ситом и воронкой (5); 6 — водяная трубка, 7 — воздушный насос с пористым концом (8); 9 — трубка для выведения жидкости из резервуара через вентиль (10), 11 — механизированная система рычагов с мешалкой (12)

5 мин дополнительно включается на 1 мин мешалка (технически наиболее сложная часть аппаратуры). Если вся аппаратура состоит из 20—40 сосудов для параллельной выгонки, то более выгодно включить систему через реле с программным устройством. Через часовые промежутки уровень воды в сообщающемся тубусе поднимается так, что материал, всплывающий на поверхность, поступает через боковую трубку на сито. Ширина отверстия сита 40 мкм, что оказывается достаточным для задержания животных, оказавшихся в сите. Под ситом имеется воронка, которая открыто соединяется с водным резервуаром, но в конце процесса закупоривается, чтобы при добавлении 70%-ного спирта до уровня, превышающего положение сита, животные (по возможности еще живые) фиксировались на сите. Струя воды перекрывается кратковременным увеличением воздушного потока. Этот процесс повторяют до тех пор, пока на сито перестанут поступать животные. По Хэйлу, это достигается после пятикратного повторения, т. е. весь процесс длится практически 5 ч. Использование воды в качестве флотационного раствора рекомендуется лишь в том случае, если учиты-

ваются легкие всплывающие виды коллембол; в иных случаях лучше использовать раствор сернистого магния с удельным весом 1,2.

Противоположный эффект, т. е. пропитывание кутикулы членистоногих, достигается при использовании углеводов (легких масел). На этом основан эффект концентрации микроартропод в воде с добавлением ксилола на границе фаз этих жидкостей. В частности, при разделении растительного и животного материала флотационным методом субстрат встряхивают в водно-бензольной смеси. Растительные частицы пропитываются водой и остаются в ней, а микроартроподы собираются в бензольном слое, так как кутикула микроартропод, содержащая липиды, оказывается смачиваемой бензолом и проницаемой для него. Если растительные частицы имеют воздушные пузырьки и не тонут, то следует суспензию в водном растворе сначала немного нагреть и (или) поддерживать под низким давлением. Кроме того, разделение лучше происходит при использовании водных растворов определенного удельного веса: 1,2—1,3. Специальный метод разработан для этого Хисом (Heath, 1965). Для извлечения микроартропод из бензола (Raw, 1955) можно охлаждать смесь до -4°C ; при этом бензол замерзает и в виде кусочка может быть выложен на выпарительную чашечку. Из-за вредности бензольных паров работу следует проводить под вытяжкой.

Большинство микроартропод прочно прилипают к маслянистой поверхности пленки. На этом основан метод масляного экстрактора (Aukamp, Ryke, 1964). Подготовленные почвенные пробы (например, сначала глубоко замороженные) заливают пятикратным объемом воды в кубических плексигласовых сосудах, расположенных по обе стороны от подвижной двойной стенки. Эта двойная стенка сделана из плексиглаза и покрыта с двух сторон тонким ланолиновым слоем. Эдвардс и Флетчер (Edwards, Fletcher, 1971) использовали силиконовые покрытия или другие масла. Эти плексигласовые сосуды крепко закрывают и центрифугируют 10—50 мин в вертикальном положении при 16 об/мин. После этой обработки стенку с двусторонним масляным покрытием вынимают, смывают водой детрит (на всякий случай эту воду нужно просматривать), а микроартроподы под бинокляром снимают с масляной пленки тонкой иглой или другим способом. Животных снова помещают в четыреххлористый углерод для удаления остатков ланолина, а

затем фиксируют в соответствии с рекомендованными способами. Для облегчения сбора с двусторонней масляной пленки стенку можно снабдить решеткой. Для предотвращения повреждения масляного покрытия вращающимися камешками Шау (Shaw, 1970) предложил помещать почвенную пробу в контейнер из грубой проволоки в центре плексигласового сосуда и покрывать масляной пленкой только крышку сосуда, а к воде добавлять метафосфат натрия. Спейт (Speight, 1973) полнее механизировал этот метод: органические частицы, оказывающиеся на поверхности при перемешивании почвы, направляются на вращающуюся ленту из нейлонового газа, импрегнированного вазелином с небольшой добавкой жидкого парафина. Лента протянута через водную ванну, в которой растительные частицы опускаются на дно. Затем микроартроподы или остатки животных, яйца смываются с ленты сильной струей воды и собираются на тонкое сито. Этот метод особенно пригоден для отделения фрагментов животных, яиц и прочих объектов, величина которых колеблется в пределах 0,7—10 мм.

Метод сбора микроартропод ловушками

Чтобы микроартроподы попадали в почвенные ловушки (ловчие стаканы) последние должны быть зарыты так, чтобы верхний край их был у поверхности почвы и переход между краем ловушки и почвой был сглажен. Вторым условием является высокая фиксирующая способность жидкости в ловушке (большой частью 3—4% -ный формалин). При длительном отлове удобно использовать легко сменяемые ловчие садки (Dunger, 1963) — банки, закрывающиеся пробкой. Извлечение микроартропод из банок проводится под биноклем. При этом следует учитывать, что мелкие членистоногие прилипают к опушению жуков и других крупных беспозвоночных, попавших в ловушку, и то, что часто (особенно в местобитаниях с редкой растительностью) в сосуд в большом количестве ветром заносится почва, которая затрудняет выборку. Для сборов исключительно микроартропод следует использовать противоиммиссионные ловушки (Dunger, Engelmann, 1978). Их преимущество состоит в снижении количества поврежденных микроартропод и грязевых частиц, а также в задерживании плавающих особей. Количественные соотношения между результатами сборов ловушками и фактической плотностью микроар-

тропод на единицу площади до сих пор, несмотря на многочисленные попытки, не определены, поэтому метод пригоден в основном для фаунистических целей.

При сборах микроартропод нередко используются аттрактанты. Сапротрофные виды концентрируются в почве с низким содержанием органического материала на приманках. Например, факультативно вредные микроартроподы (*Opuschiurus* и др.) часто обнаруживаются весной около прорастающих семян (свекла, ячмень и др.).

Многие микроартроподы, особенно активно передвигающиеся коллемболы, могут привлекаться двуокисью углерода. Закапывают пять кусочков сухого льда (до 500 г весом) на площади 1,5 м² в гумусовый слой или у поверхности почвы и снова закрывают площадку подстилкой. Для концентрации СО₂ вся площадка закрывается сверху шерстяной тканью (для сборов клещей она должна быть белой). Через 15 мин можно собирать животных, концентрирующихся между подстилкой и покровом, с помощью эксгаустера. Через 1–2 ч животных, привлеченных СО₂, собирают с поверхности подстилки. Следует подчеркнуть, что действие приманки видоспецифично. Количественная достоверность метода пока не проверена. Технически возможно использовать его модификации, применяя газообразную углекислоту (Балашов, 1972) либо сухой лед в пластиковых контейнерах с отверстиями для выхода газа. Этот метод неприменим при низких температурах (ниже порога активности животных) и во влажных почвах из-за низкой скорости диффузии углекислоты.

ГЛАВА 3

Учет мелких беспозвоночных на водных воронках (микрофауна)

Количественные учеты мелких почвообитающих червей (*Enchytraeidae*, *Nematoda*), популяции которых достигают высоких уровней численности, проводятся чаще всего методом водных воронок. Метод водных воронок был разработан для экстракции нематод. Метод был разработан Берманом (Baermann, 1917). В модификации О'Коннора он применяется и для энхитреид. По размерным признакам энхитреиды занимают промежуточ-

ное положение между группировками мезо- и микрофауны. Более крупные особи хорошо заметны при ручной разборке почвы. Но полная выборка представителей мелких видов, а также ювенильных мелких экземпляров возможна только под биноклем. В этом случае ручная разборка проб очень трудоемка, а в эклекторах, применяемых для учета микроартропод, энхитреиды погибают. Поэтому для этой группы разработаны свои специфические методы экстракции с учетом экологических особенностей этих животных

Методы учета энхитреид

Численность энхитреид иногда достигает 100—150 тыс. экз/м². Наиболее употребительны методы О. Нильсена (Nielsen, 1952—1953) и Ф. Б. О'Коннора (O'Connor, 1967). Метод Нильсена основан на принципе создания температурного градиента. Отдельные пробы помещают в цилиндрические сосуды (можно использовать высокие консервные банки) диаметром 10 см и высотой около 20 см с дырчатым дном (рис. 17). На дно сосуда насыпают слой гравия высотой около 3 см, выше которого (на 1-2 см) вставляют плотно пригнанное к стенке проволочное сито. На это сито помещают пробу почвы, которую сверху присыпают влажным песком. Такие сосуды с пробами вставляют в нагреваемый на медленном огне сосуд с водой, налитой до высоты гравия в сосудах с пробами. Нагревают воду до 60—65°, и так пробы выдерживают около 2 ч. За это время черви выползают из более горячего субстрата в песок, откуда их извлекают и подсчитывают.

В толщу песка закладывают охлаждающую поперечную трубку, через которую пропускают холодную воду для создания температурного градиента. Трубку помещают на глубину 0,5 см от поверхности песка. Площадь проб определяется диаметром цилиндрического сосуда для выгонки (в оригинальной конструкции 7,3 см). Толщина почвенной пробы 5 см. Песок, куда выползают энхитреиды, тщательно отмывают перед процедурой от органических и иловатых частиц.

Менее громоздким является метод О'Коннора (рис. 18). На носик большой полиэтиленовой воронки (диаметр около 10 см) надевают резиновую трубку с зажимом, под которую подставляют сосуд. В воронку наливают воду, а в верхней части воронки укрепляют

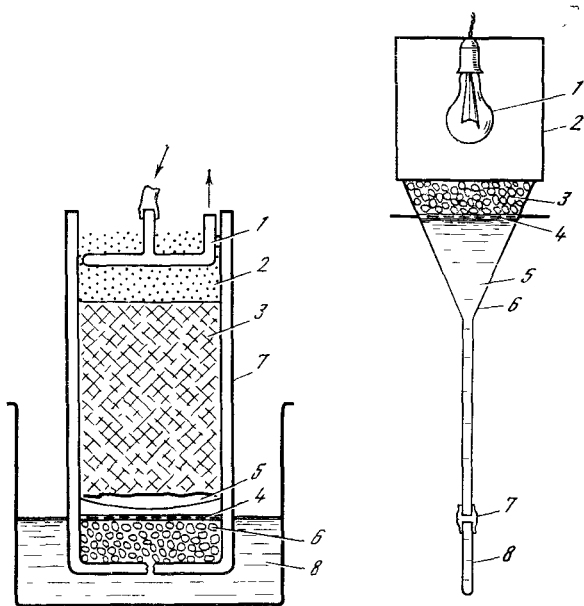


Рис. 17. Аппарат Нильсена для экстракции энхитреид (Nielsen, 1952/1953)

1 — водяной холодильник, 2 — песок; 3 — почвенная проба; 4 — сито; 5 — гипс; 6 — гравий; 7 — стакан для экстракции; 8 — водяная баня

Рис. 18. Установка О'Коннора для учета энхитреид (O'Connor, 1967)

1 — лампа; 2 — цилиндр; 3 — почвенная проба; 4 — сито; 5 — вода; 6 — воронка; 7 — эластичная муфта; 8 — приемник

сито, на котором распределяют пробу почвы так, чтобы почва оказалась погруженной в воду. Над пробой включают 60-ватную электрическую лампочку. При нагреве пробы энхитреиды мигрируют вниз и, проползая сквозь ячейки сита, тонут в воде, накапливаясь в носике воронки и в резиновой трубке. После 3 ч выгонки открывают зажим и черви со струйкой воды попадают в подставленный сосуд, после чего их легко подсчитать. Оба метода дают близкие величины при исследовании минеральных почв. Но при выгонке из подстилки и из торфянистой почвы последний метод позволяет учесть в 1,5 раза больше энхитреид.

Воронки монтируют в батарею по 12 шт на металлическом стеллаже.

Размеры проб (в авторском варианте) 6,3 см диаметром и 6 см глубиной. Они отбираются буром и разделяются вручную на слои по 2 см. На сите пробы размельчаются, что не влияет на эффективность экстракции. Нагревание ведут осторожно, чтобы не травмировать животных. Через 15 мин после начала нагревания температура пробы не должна превышать 17,5°, а через 3 ч — 44° у поверхности пробы и 33,5° — у ее основания. Метод О'Коннора значительно эффективнее, чем учеты энхитреид ручной выборкой.

На необходимость послойного учета энхитреид указывает и Абрахамсен (Abrahamsen, 1969). Распределение энхитреид по участку бывает гнездовым. В среднем их распределение больше приближается к пуассоновскому, чем к нормальному типу (Nielsen, 1955; Abrahamsen, 1969). Величина стандартного отклонения зависит от численности червей в пробе. Замечена приуроченность энхитреид к местам с выбросами экскрементов дождевых червей (которые, в свою очередь, заглатывают экскременты энхитреид), что может определять различия их численности в соседних микроучастках, не отличающихся по другим показателям.

Методы учета свободноживущих нематод

Метод экстракции нематод на водных воронках основан на том, что эти черви легко переходят из почвы в воду (Ваегманн, 1917). Прибор (рис. 19) состоит из воронки, вставленной носиком в пробирку. Воронка с пробиркой вставлена в сосуд примерно такой же высоты, как воронка с пробиркой. В сосуд наливают воду так, чтобы воронка была почти доверху заполнена. В воронку на сите из мелкой капроновой сетки помещают пробу почвы определенного объема (1 см³) или массы (1 г), которую на сите осторожно разминают таким образом, чтобы исследуемая проба оказалась погруженной в воду. Пробу нужно помещать в воронку возможно скорее после взятия, не допуская ее высыхания. Нематоды проползают через ячейки сита и скатываются в пробирку. Подсчет опустившихся на дно пробирки нематод проводится через сутки на часовом стекле или в камере Богорова.

Упрощенная модель воронки Бермана следующая. На трубчатую часть воронки надевают резиновую трубку с зажимом Мора. Воронку вставляют в штатив, нали-

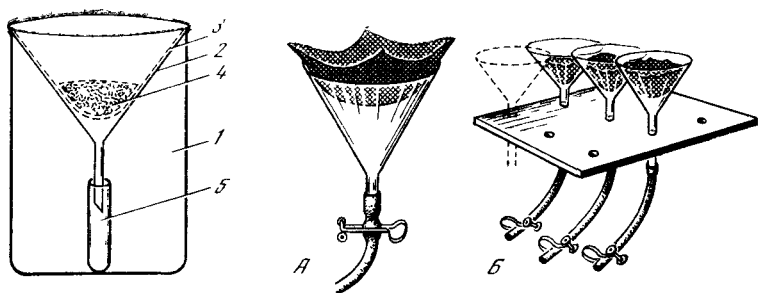


Рис. 19. Водяная воронка Бермана

1 — сосуд с водой, 2 — воронка; 3 — сито; 4 — почвенная проба; 5 — приемник

Рис. 20. Упрощенная модель водяных воронок

А — модифицированная воронка Бермана; Б — батарея воронок

вают водой. Далее все, как в предыдущем случае. По окончании выгонки нематод под резиновую трубку (рис. 20) подставляют пробирку и, осторожно открывая зажим, нижнюю порцию вместе с затонувшими нематодами сливают в нее.

Нильсен (Nielsen, 1947-1948) модифицировал этот метод, монтируя воронки в ящике с высокой крышкой с 16-ваттной электрической лампочкой. Воронки заливают холодной водой (около 13°). Через час вода нагревается до 30°, при этой температуре (выше оптимума для нематод) нематоды становятся подвижными. Через 12 ч они скапливаются на дне резиновой трубки. Нематод подсчитывают в камере Богорова, в часовом стекле или в чашке Петри (разграфленной царапинами на квадраты). Этот метод пригоден также для учета коловраток и тихоходок.

Используют пластмассовые, стеклянные и парафинированные воронки. Газонепроницаемые стенки резиновых трубок создают анаэробные условия в нижних их частях или в приемнике. В результате нематоды погибают и разлагаются. Рекомендуется использовать газопроницаемые полиэтиленовые шланги (Stoller, 1957), аэрировать воду перед заливкой в воронки (Townshend, 1976), а для более легкого выявления нематод добавлять в воду 2 мг/л метилена-блау (Powell, Nusbaum, 1963).

Почву рекомендуется распределить тонким слоем на ситах, чтобы проба была чуть прикрыта водой. Для

предотвращения попадания частиц почвы в приемник используются фильтры из крупнозернистого песка, пресованной или стеклянной ваты, фильтровальной, капроновой или туалетной бумаги.

Максимальный выход нематод из проб наблюдается при температуре, близкой к оптимуму активности. Температурные оптимумы нематод из разных климатических районов различны. Поэтому рекомендуется проводить экстракции при комнатной температуре (Barker, Nusbaum, 1971). В целях акклиматизации пробы предварительно хранят 2—3 дня при этих температурах.

Нематоды быстрее переходят в воду из влажной почвы, чем из сухой. Поэтому некоторые авторы рекомендуют увлажнять почву за 2 сут до экстракции (Simons, 1973). Почвенные пробы, отобранные для учета нематод, могут храниться до двух недель при комнатной температуре при увлажнении ее до 40—60% от полной влагоемкости (Thorne, 1961). В почвенных пробах нематоды могут существовать в течение нескольких месяцев. Оптимальная температура хранения 10—15°. При температуре около 0° погибают многие формы из районов с жарким климатом, а при температуре выше 30° погибает большинство фитопаразитических форм, а сапробионтные сохраняются (Метлицкий, 1978). Длительность экстракции нематод 12—24 ч.

В некоторых методиках предусматривается более длительная экстракция — 2—8 сут. Выход нематод из почвы наблюдается в течение нескольких недель и даже месяцев (Oosterbrink, 1970). При этом экстрагируются особи, вышедшие из яиц уже после начала экстракции. Однако оптимальные сроки экстракции нематод при количественных учетах не должны превышать 3 сут.

Для концентрации нематод в сливной жидкости используют отстаивание — декантацию либо центрифугирование (Вагманн, 1917).

Для количественных учетов нематод рекомендуются большие пробы (более 100 г). В них величина ошибок колеблется в пределах 6—25%, в то время как в мелких пробах — 40—140%. Нильсен (Nielsen, 1949) рекомендует величину проб из расчета 0,03—0,2 г почвы на 1 см² площади сита. При больших загрузках выход нематод снижается. Наибольшая эффективность экстракции нематод наблюдается при толщине слоя почвы на фильтре 1,4—2,8 см.

Крупные навески почвы (100 г) предварительно обрабатывают (декантация, отмучивание, процеживание через батареи сит). На фильтры сливают только осадки с сит либо помещают большие пробы (300—500 г) на широкие плоские контейнеры. Этот метод более эффективен, так как мелкие нематоды не улавливаются даже самыми мелкими ситами. При использовании металлических сит ионы металла, переходящие в воду, могут убивать нематод. Поэтому рекомендуется использование для сит пластиковых материалов.

При исследовании населения лесных почв предложен метод раздельного учета нематод из мха и из гумусового слоя (Penkopen, 1949). Пробу мха (и слабо разложившейся подстилки) помещают в воронку Бермана, почти заполненную водой. Воронку встряхивают, при этом нематоды отрываются от растений и их остатков. После этого воронку устанавливают: мох и подстилка всплывают, а нематоды медленно погружаются. Через 30 мин активные нематоды достигают дна воронки, воронку (пробирку) снимают и подсчитывают нематод. Нематоды, находящиеся в состоянии анабиоза, прикрепившиеся к растительным частицам, переходят к активному состоянию позже. Воронку с пробой надо ежедневно потряхивать и производить подсчет нематод в течение 20 дней. Так удастся подсчитать и нематод, бывших в состоянии анабиоза.

При учете нематод в гумусовом слое пробу в фарфоровой ступке увлажняют, тщательно размельчают иглами, а затем заливают водой и взмучивают. Легкие всплывающие частицы снимают и затем исследуют, как пробы мха, а тяжелую фракцию пробы помещают в химический стакан. Когда через 2—3 сек тяжелые частицы осядут, воду со взвешенными в ней нематодами декантируют в другую воронку Бермана. Для большей гарантии полноты учета операцию повторяют еще раз.

Методы количественного учета почвенных простейших (нанофауна)

Наблюдения над почвенными протистами непосредственно на почвенных частицах и в почвенных капиллярах, а также микроскопирование почвенной суспензии (Koch, 1915, 1916; Francé, 1921; Koffman, 1928; Kubierna, 1938) позволяют обнаружить активных амёб, жгутиконосцев и инфузорий. Однако прямое наблюдение трудоемко из-за сравнительно малого количества организмов в исследуемом объеме почвы и их адсорбции почвенными частицами, затрудняющей обнаружение клеток в поле зрения микроскопа.

Ряд исследователей изучали простейших, изготавливая и микроскопируя препараты и мазки почвенной суспензии (Martin, Lewin, 1914, 1915; Догель, Раммельмейер, Стрелков, 1927). Так, Бант и Чан (Bunt, Tchan, 1955) изготавливали препараты на предметных стеклах из серии десятикратных разведений; окрашивая почвенную суспензию дифференцирующими красителями — эритрозином и метиленовым зеленым, отмечали присутствие или отсутствие простейших на стекле и подсчитывали количество организмов в исходном почвенном образце.

Методики, связанные с изготовлением препаратов и мазков, трудно применимы, так как одновременно окрашивающиеся органические частицы почвы затрудняют отыскание простейших: последние часто деформируются и разрушаются.

Перечисленные методы экстрагирования не пользуются широким признанием, но в некоторых случаях могут использоваться.

Т. В. Аристовская и О. М. Паринкина (1961) применяли для исследования почвенной микрофауны в естественных условиях педоскоп, сконструированный Б. В. Перфильевым и Д. Р. Габе (1961) и представляющий собой держатель с системой капилляров, который помещают в почву на срок от нескольких дней до нескольких недель. Под влиянием капиллярных сил в сосуды педоскопа проникают микроорганизмы, в том числе и простейшие. Для более полной имитации естественных условий и более быстрого и обильного развития микроорганизмов капилляры заполняют 1%-ным

раствором агар-агара с приманочными или питательными веществами, например органо-минеральными комплексами гумусовых веществ, свойственных изучаемому типу почвы. Модификация этих методов применительно к простейшим — проращивание почвенного мелкозема на покровных стеклах, покрытых тонким слоем водного раствора агар-агара во влажных камерах (Гельцер, 1960).

Прямые методы употребляют не только для обнаружения, но и для подсчета простейших (Шульгина, 1927; Догель, Раммельмейер, Стрелков, 1927; Bunt, Tchan, 1955).

Однако наиболее широко при работе с почвенными простейшими используется метод культур, основанный на внесении исследуемой почвы в искусственные питательные среды (Николюк, 1965). Питательную среду выбирают в зависимости от характера движения простейших и их пищевых требований. Так, в жидкой среде развиваются в основном активно двигающиеся инфузории и жгутиконосцы; на плотных агаризованных средах — главным образом амебы. Многие исследователи предпочитают использовать в качестве культуральных жидкостей бедные питательными веществами среды, лишенные избирательных свойств: почвенный экстракт, дистиллированную и водопроводную воду. В таких средах развивается меньшее количество организмов, но богаче видовой состав. Неизбирательная среда позволяет развиваться представителям видов, которые находятся в почве в активном состоянии, — истинно почвенных видов (Neal, 1964).

Распределение простейших в почве неравномерно. Поэтому, как и при микробиологических обследованиях, при отборе проб берут «среднюю пробу». Почву берут ножом, который предварительно очищают, втыкая несколько раз в землю рядом с местом взятия пробы. Материал помещают в пергаментный пакет. При необходимости длительного хранения проб пакеты, не разворачивая, доводят до воздушно-сухого состояния при комнатной температуре, в хорошо проветриваемом и затененном месте.

В лаборатории почву тщательно перемешивают шпателем, растирают в фарфоровой ступке пестиком с каучуковым наконечником или пальцем в резиновой перчатке и отбирают пинцетом корешки растений. Образец просеивают через сито (0,25 мм²).

Разработаны разные методические подходы для изучения активно двигающихся форм (инфузории и жгутиконосцы), голых амёб и раковинных амёб.

Для выделения и подсчета инфузорий и жгутиконосцев используют широко применяемые в микробиологии методы предельных разведений навески почвы жидкой питательной средой (сенной настой с почвенной вытяжкой в соотношении 1:1) (Cutler, 1920; Николюк, Гельцер, 1972).

Навеска почвы (10 г) тщательно растирается при увлажнении до пастообразного состояния жидкой питательной средой (Звягинцев, 1966).

Обычно делают шесть разведений от 1:10 до 1:1 000 000. В стерильную колбу с питательной средой помещают подготовленный почвенный образец. Первое разведение — 1:10, к почве добавляют 90 см³ жидкости (вместе с тем количеством, которое использовали при растирании), взбалтывают в течение 10 мин и на 30 сек оставляют для осаждения грубых частиц. Из полученной почвенной суспензии делают второе разведение в трех повторностях: стерильной пипеткой берут 1 мл почвенной суспензии и переносят в пробирку с 9 мл жидкой питательной среды (разведение 1:100). Затем из этой пробирки стерильной пипеткой переносят 1 мл в следующую пробирку с 9 мл. Всего таким образом делают пять разведений — от 1:100 до 1:1 000 000. Сосуды надписывают и помещают в термостат при 22–24° или содержат при комнатной температуре. Микроскопический контроль культуры и определение проводят с 3-4-х по 30-е сутки инкубации несколько раз, так как инцистирование и эксцистирование разных видов происходят в разные сроки и одни формы простейших сменяют другие. Для сгущения суспензии и удобства обнаружения организмов в культуре 1–2 мл ее центрифугируют в течение 2-3 мин на ручной центрифуге. Начинать просмотр следует с последнего, самого большого разведения (1:1 000 000). Каплю культуры помещают под покровное стекло для микроскопирования. Для замедления движения организмов (иммобилизации) используют вязкий настой айвовых семечек (4–6 шт на 10 мл воды) или слабый раствор агар-агара (0,001 %).

Количество простейших (по таксономическим группам или по отдельным видам) определяют по таблице Мак-Крэди (McCrary, 1918), предложенной для подсчета микроорганизмов (табл. 1).

Таблица 1. Определение количества простейших в 1 г почвы (3 повторности; с сокращениями по: McCrady, 1918)

Числовая характеристика	Наиболее вероятное число простейших	Числовая характеристика	Наиболее вероятное число простейших
300	2,5	320	9,5
301	4,0	321	15,0
302	6,5	322	20,0
303	—	323	30,0
310	4,5	330	25,0
311	7,5	331	45,0
312	11,5	332	110,0
313	16,0	333	140,0

Для этого составляют числовую характеристику, состоящую из трех цифр: первая соответствует числу повторностей (обычно 3). При этом надо отметить, в каком самом большом разведении впервые появились представители данной группы или вида во всех трех пробирках. Следующие две цифры числовой характеристики соответствуют числу повторностей, в которых развилась культура в двух больших разведениях, следующих после первого отмеченного. В таблице находим вероятное число, соответствующее установленной числовой характеристике. Для получения количества простейших в 1 г почвы это вероятное число умножаем на знаменатель того разведения, где впервые во всех трех повторностях появилась данная культура. Поясним сказанное на примере:

Разведения	1:10	1:100	1:1000	1:10 000	1:100 000	1:1 000 000
Число пробирок с развившейся культурой простейших	3	3	0	1	0	0

Число повторностей — 3 (первая цифра характеристики), при этом впервые (начиная с разведения 1:1 000 000) во всех трех пробирках культура данного организма развивалась в разведении 1:100. Следующими цифрами характеристики будут: ноль (в разведении 1:1000 вообще не развились клетки данных простейших) и единица (в разведении 1:100 000 они развились в одной пробирке). Получаем числовую характеристику

301. В табл. 1 ей соответствует вероятное число 4,0, которое нужно умножить на 100, так как впервые именно в разведении 1:100 было отмечено развитие культуры во всех пробирках. Следовательно, количество организмов данной группы в 1 г почвы — 400. Для подсчета общего числа простейших в 1 г почвы числа, полученные для каждой группы, суммируют. При анализе свежей почвы учитывают процент влажности.

Используют также метод подсчета простейших, при котором делают последовательный ряд десятичных разведений навески почвы стерильной водой. Каплю из каждого разведения высевают в пробирки с питательной средой (сенной настоей с почвенной вытяжкой). Посевы культивируют, при этом количество простейших в 1 г почвы принимают равным знаменателю того разведения, в посевах из которого развились культуры простейших (Николюк, 1956).

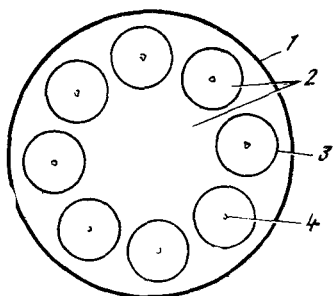
Оригинальную модификацию метода разведений для подсчета бактериальных и протозойных популяций в почве разработал и описал Дэрбишер с соавторами (Darbyshire et al., 1974).

При работе с почвенными простейшими существенным является не только определение общего числа организмов, но и выявление соотношения активных и инцистированных форм. Катлер (Cutler, 1920) предложил обрабатывать параллельно исследуемой навеску почвы 2%-ной HCl в течение нескольких часов. При этом активные формы погибают, цисты же сохраняют жизнедеятельность. После обработки HCl подсчитывают количество цист, применяя обычную методику. О количестве активных форм в почве дает представление разность между подсчетами по первой и второй навесками. Однако действие HCl, видимо, не столь однозначно, так как иногда после обработки кислотой количество развившихся организмов значительно увеличивается. Для уничтожения живых клеток используют также нагревание почвенной суспензии до 60–70° (Severzowa, 1924).

Амебы находят более подходящие условия для своего развития на плотной питательной среде — на агаровых пластинках. Л. Б. Северцова (1924) высевала на агаризованную среду в чашке Петри крестообразно 15 колоний *Bacterium coli* и в центр каждого крестика вносила капельку почвенной суспензии определенного разведения, в которой развивались амебы. Недостаток этого приема — возможность передвижения амеб из од-

Рис. 21. Чашка Петри с кольцами
(по. Синг, 1946)

- 1 — чашка Петри;
- 2 — агар-агар;
- 3 — стеклянные кольца;
- 4 — колонии *Bacterium coli*



ной колонии в другую. Дальнейшей разработкой его явился метод Синга, применяемый сейчас в практической работе с почвенными простейшими (Singh, 1946).

Готовят 16 стерильных чашек Петри диаметром 10 см, в каждой из которых находятся восемь стеклянных или пропиленовых колец высотой 10 мм и с внутренним диаметром 20 мм. В чашки разливают по 20—25 мл горячего стерильного агар-агара (1,5% агар-агара, 5 г NaCl, 1 г CaCO₃ на 1 л воды) и распределяют кольца по краю чашки таким образом, чтобы они не соприкасались (рис. 21). После застывания агара в центр каждого кольца на агар наносят капельку густой суспензии *V. coli*, служащих простейшим пищей (2-3 см³ стерильной воды на один «косячок» *V. coli*). Чашки ставят на сутки в термостат при температуре 37° для развития колоний бактерий.

10 г исследуемой почвы, подготовленной описанным выше способом, помещают в колбу с 50 мл стерильной водопроводной воды, несколько минут встряхивают, дают 30 сек отстояться. Полученная почвенная суспензия представляет собой разведение 1 : 5. Заготавливают 15 пробирок с 5 мл стерильной водопроводной воды. Из колбы с почвенной суспензией пипеткой берут 5 мл и помещают в пробирку с 5 мл стерильной воды (разведение 1 : 10). 5 мл полученной суспензии переносят в следующую пробирку (1 : 20) и т. д. — до 15-го разведения (14 пробирок и одна колба), т. е. до разведения 1 : 81 920. Из каждого разведения отдельной пипеткой вносят по одной капле суспензии на колонию *V. coli* в каждое из восьми колец одной чашки Петри. Каждая чашка, следовательно, соответствует одному разведению в восьми повторностях. 16-я чашка — только с *V. coli* — ставится в качестве контрольной. Чашки помещают в термостат при температуре 22—24° на 30 дней или содержат при комнатной температуре. Через 3-4 дня про-

смазывают кольца для обнаружения активных простейших. Для этого стерильной микробиологической петлей делают соскоб с поверхности агара внутри кольца, добавляют каплю стерильной воды и препарат исследуют под микроскопом. Кольцо, с которого начали просмотр, отмечают. При достаточном навыке можно заметить наличие амёб в кольце и под бинокляром по «выеданию» края колонии *V. coli*. Количество амёб определяют, подсчитывая кольца, в которых обнаружены простейшие, и кольца без них в каждом разведении.

С учетом статистической вероятности, вычисленной по методу Фишера (Fischer, Yeates, 1943), Синг составил таблицу, по которой определяют численность простейших в 1 г почвы. По сумме колец, где амёбы отсутствовали, находим по таблице вероятное их число (табл. 2).

Общее количество амёб суммируется из числа клеток отдельных видов. Синг определил эффективность этого метода в 64—73%, проведя подсчет заранее известного числа амёб.

Различные исследователи вносят в методику Синга свои изменения. Так, в отношении наиболее подходящего источника пищи для амёб нет единого мнения. Синг предпочитает использовать *Azotobacter*, Стаут (Stout, 1962) вообще не вносит бактерий, считая, что добавление их создает благоприятные условия для развития лишь определенных видов простейших. Автор вместо колец применяет чашечки 2 см в диаметре. В них можно поместить до 1 мл среды данной степени разведения, что дает возможность развиваться более разнообразной протистофауне, в особенности инфузориям.

Подбирали также оптимальные для развития всех групп простейших концентрации агар-агара. Низкие концентрации (0,25%) и большое количество воды способствуют размножению цилиат, но при этом происходит взаимное заражение колец из-за миграции амёб сквозь агар.

А. К. Лепинис (1970) предложил совместить метод Синга и метод разведений, добавляя в кольца с агаром почвенную вытяжку и учитывая одновременно амёб, инфузорий и жгутиконосцев. Число колец (повторностей) он сократил с 8 до 5.

Для изучения раковинных корненожек на край покровного стекла, положенного на предметное, помещают небольшое количество исследуемой почвы. На нее

Таблица 2. Определение числа простейших в 1 г почвы методом разведений (по: Singh, 1946)

1*	2**	1	2	1	2	1	2	1	2
4	1 690 000	27	132 000	50	17 300	73	1330	96	317
5	1 430 000	28	121 000	51	15 800	74	2140	97	290
6	1 230 000	29	110 000	52	14 500	75	1960	98	265
7	1 060 000	30	101 000	53	13 300	76	1800	99	243
8	931 000	31	92 000	54	12 200	77	1650	100	223
9	824 000	32	84 200	55	11 100	78	1610	101	203
10	729 000	33	77 100	56	10 200	79	1390	102	185
11	650 000	34	70 500	57	9 380	80	1270	103	169
12	581 000	35	64 500	58	8 570	81	1170	104	154
13	520 000	36	59 000	59	7 860	82	1070	105	140
14	467 000	37	54 000	60	7 210	83	979	106	126
15	421 000	38	49 400	61	6 600	84	898	107	113
16	380 000	39	45 200	62	6 040	85	823	108	101
17	344 000	40	41 400	63	5 540	86	755	109	90,2
18	311 000	41	37 900	64	5 080	87	693	110	79,4
19	282 000	42	34 700	65	4 670	88	635	111	69,5
20	256 000	43	31 800	66	4 280	89	582	112	60,2
21	232 000	44	29 200	67	3 920	90	534	113	51,3
22	211 000	45	26 700	68	3 600	91	490	114	42,9
23	192 000	46	24 500	69	3 300	92	450	115	34,8
24	175 000	47	22 400	70	3 020	93	412	116	27,4
25	159 000	48	20 500	71	2 770	94	377		
26	145 000	49	18 800	72	2 540	95	346		

* Количество колец без амеб. ** Количество клеток в 1 г почвы.

капают несколько капель стерильного водного почвенного экстракта. Пространство между предметным и покровным стеклом действует как капилляр и затягивает жидкость внутрь. С ней проникают и находящиеся в почве раковинки и другие организмы, однако лишь сравнительно небольшие по размеру (Koffman, 1928).

Водную почвенную суспензию наливают в цилиндр и с помощью насоса вдувают воздух. На поверхность суспензии помещают прикрепленное пластилином к нитке покровное стекло, на которое оседают раковинные амебы (Martin, Lewin, 1915).

Из торфяных почв возможно «выжать» на стекло некоторое количество воды, содержащей Testacida. Од-

нако при этом частично выпадают формы, прикрепленные к почвенным частичкам (Neal, 1967).

Метод окрашивания почвенных образцов (Volz, 1951; Гиляров, 1955): почвенную пробу объемом $0,5 \text{ см}^3$ заливают раствором виоламинблау (плазменного красителя) в феноле (по Schönborn, 1966, можно использовать витальный краситель нейтральный красный в разведении от 1 : 1000 до 1 : 10 000; применимы также и другие плазменные красители), разводят в 25 раз водой и делят на пять порций. Взвесь рассматривают под микроскопом в чашке Петри с разделенным на квадраты дном и подсчитывают обнаруженных раковинных амёб, которых затем пересчитывают на исходный объем почвы. Для анализа торфов предложена особая методика: образец долго кипятят, процеживают через мельничный газ и центрифугируют, затем воду сливают, а к осадку прибавляют равный объем глицерина. Просматривают пять стекол при увеличении 200.

Прямое микроскопирование почвенной суспензии дает возможность выделить и идентифицировать раковинных амёб и учесть их количество (Жорганова, 1975). Для этого из образца почвы готовят суспензию. В зависимости от частоты встречаемости организмов, а также от количества органического вещества отвешивают 100—200 мг исследуемой почвы, частицы опада и корни отбирают, образец заливают 20—25 мл стерильной водопроводной воды в колбочке на несколько часов, затем встряхивают в течение 10 мин. Почвенную суспензию сливают в чашку Петри диаметром 10 см с плоскопараллельным шлифованным дном, которое предварительно расчерчено тонким пером тушью на квадраты по 1 см^2 . Частицы почвы легким покачиванием и с помощью препаровальной иглы равномерно распределяют по дну чашки тонким слоем, и взвесь просматривают под бинокулярным микроскопом МБС-1 в 14 квадратах, расположенных крестообразно по диагонали чашки. Общее количество амёб, а также отдельных их видов в навеске почвы определяется по формуле $(N/14)S$, где N - число раковинок в 14 квадратах, а S - площадь дна чашки. При анализе свежей почвы необходимо учитывать процент влажности.

Культуральный метод при работе с простейшими применяется рядом авторов (Николюк, 1956). Небольшой образец почвы или подстилки (1 г) добавляют к стерильной среде, где развивается культура (для тестаций,

учитывая их медленный рост, в течение нескольких недель). Наиболее благоприятны эти условия для развития тонкостенных форм типа *Euglypha* и *Trinema*.

Джонсом и Моллисоном (Jones, Mollison, 1948) была предложена методика, дающая возможность подсчитать количество Testacida и благодаря окрашиванию выявить пропорцию живых организмов и пустых раковин. Почвенный образец просеивают через сито с отверстием 2 мм и отвешивают необходимое количество почвы (подбираемое так, чтобы обеспечить удобство пересчета на 1 г почвы и достаточную плотность организмов в поле зрения). Почву помещают в сосуд с 5 мл стерильной дистиллированной воды и тщательно размешивают. Полученную суспензию переливают в стерильную колбу на 100 мл. В первом сосуде при этом должны остаться лишь грубые частицы песка. Взвесь затем разбавляют до 50 мл 1,5%-ным раствором агара, предварительно профильтрованным в горячем виде через бумажный фильтр. Колбу встряхивают и оставляют на 5 сек для осаждения тяжелых частиц. Образец берут пипеткой непосредственно под поверхностью суспензии, переносят на стекло счетной камеры Тома, покрывают покровным стеклом, и суспензия застывает. Затем счетную камеру погружают в стерильную дистиллированную воду, покровное стекло удаляют, лишний агар, застывший по бокам плоскости, снимают скальпелем. При осторожном колебании стекла в воде пленка всплывает, ее помещают на обычное предметное стекло и медленно, чтобы избежать трещин, подсушивают при комнатной температуре. Высушенные пленки погружают на 1 ч в краску следующего состава: 5%-ный водный фенол — 15 мл; 10%-ный водный анилинблау — 1 мл; ледяная уксусная кислота — 4 мл. Все это фильтруют через час после приготовления. Пленки быстро промывают, обезвоживают в 95%-ном спирте и из них изготавливают постоянные препараты, которые затем просматривают с иммерсией, а также с использованием фазово-контрастной микроскопии. Подсчитывают количество раковин в объеме наблюдаемой в поле зрения микроскопа агаризованной суспензии, которое вычисляют умножением площади поля зрения микроскопа на глубину счетной камеры. Зная разведение почвы в агаре, можно подсчитать количество организмов на 1 г почвы.

Для подсчета количества и характера микрораспределения тестаид в почве Бэрджес и Николас (Burges,

нако при этом частично выпадают формы, прикрепленные к почвенным частичкам (Heal, 1967).

Метод окрашивания почвенных образцов (Volz, 1951; Гиляров, 1955): почвенную пробу объемом $0,5 \text{ см}^3$ заливают раствором виоламинблау (плазменного красителя) в феноле (по Schönborn, 1966, можно использовать вигальный краситель нейтральный красный в разведении от 1 : 1000 до 1 : 10 000; применимы также и другие плазменные красители), разводят в 25 раз водой и делят на пять порций. Взвесь рассматривают под микроскопом в чашке Петри с разделенным на квадраты дном и подсчитывают обнаруженных раковинных амёб, которых затем пересчитывают на исходный объем почвы. Для анализа торфов предложена особая методика: образец долго кипятят, процеживают через мельничный газ и центрифугируют, затем воду сливают, а к осадку прибавляют равный объем глицерина. Просматривают пять стекол при увеличении 200.

Прямое микроскопирование почвенной суспензии дает возможность выделить и идентифицировать раковинных амёб и учесть их количество (Корганова, 1975). Для этого из образца почвы приготавливают суспензию. В зависимости от частоты встречаемости организмов, а также от количества органического вещества отвешивают 100—200 мг исследуемой почвы, частицы опада и корни отбирают, образец заливают 20—25 мл стерильной водопроводной воды в колбочке на несколько часов, затем встряхивают в течение 10 мин. Почвенную суспензию сливают в чашку Петри диаметром 10 см с плоскопараллельным шлифованным дном, которое предварительно расчерчено тонким пером тушью на квадраты по 1 см^2 . Частицы почвы легким покачиванием и с помощью препаративной иглы равномерно распределяют по дну чашки тонким слоем, и взвесь просматривают под бинокулярным микроскопом МБС-1 в 14 квадратах, расположенных крестообразно по диагонали чашки. Общее количество амёб, а также отдельных их видов в навеске почвы определяется по формуле $(N/14)S$, где N — число раковинок в 14 квадратах, а S — площадь дна чашки. При анализе свежей почвы необходимо учитывать процент влажности.

Культуральный метод при работе с простейшими применяется рядом авторов (Николюк, 1956). Небольшой образец почвы или подстилки (1 г) добавляют к стерильной среде, где развивается культура (для тестаций,

учитывая их медленный рост, в течение нескольких недель). Наиболее благоприятны эти условия для развития тонкостенных форм типа *Euglypha* и *Trinema*.

Джонсом и Моллисоном (Jones, Mollison, 1948) была предложена методика, дающая возможность подсчитать количество Testacida и благодаря окрашиванию выявить пропорцию живых организмов и пустых раковинок. Почвенный образец просеивают через сито с отверстием 2 мм и отвешивают необходимое количество почвы (подбираемое так, чтобы обеспечить удобство пересчета на 1 г почвы и достаточную плотность организмов в поле зрения). Почву помещают в сосуд с 5 мл стерильной дистиллированной воды и тщательно размешивают. Полученную суспензию переливают в стерильную колбу на 100 мл. В первом сосуде при этом должны остаться лишь грубые частицы песка. Взвесь затем разбавляют до 50 мл 1,5%-ным раствором агара, предварительно профильтрованным в горячем виде через бумажный фильтр. Колбу встряхивают и оставляют на 5 сек для осаждения тяжелых частиц. Образец берут пипеткой непосредственно под поверхностью суспензии, переносят на стекло счетной камеры Тома, покрывают покровным стеклом, и суспензия застывает. Затем счетную камеру погружают в стерильную дистиллированную воду, покровное стекло удаляют, лишний агар, застывший по бокам плоскости, снимают скальпелем. При осторожном колебании стекла в воде пленка всплывает, ее помещают на обычное предметное стекло и медленно, чтобы избежать трещин, подсушивают при комнатной температуре. Высушенные пленки погружают на 1 ч в краску следующего состава: 5%-ный водный фенол — 15 мл; 10%-ный водный анилинблау — 1 мл; ледяная уксусная кислота — 4 мл. Все это фильтруют через час после приготовления. Пленки быстро промывают, обезвоживают в 95%-ном спирте и из них изготавливают постоянные препараты, которые затем просматривают с иммерсией, а также с использованием фазово-контрастной микроскопии. Подсчитывают количество раковинок в объеме наблюдаемой в поле зрения микроскопа агаризованной суспензии, которое вычисляют умножением площади поля зрения микроскопа на глубину счетной камеры. Зная разведение почвы в агаре, можно подсчитать количество организмов на 1 г почвы.

Для подсчета количества и характера микрораспределения тестаид в почве Бэрджес и Николас (Burgess,

Nicolas, 1961) предложили метод почвенных срезов. Толщину срезов (около 50 мкм) определяли с помощью оптического приспособления к микроскопу; учитывали количество организмов в 1 г почвы.

Хил (Neal, 1964) ставил культуры на двух небогатенных питательных средах: к 0,5 г навески почвы или мха в чашке Петри (диаметр 10 см) добавляли в первом варианте почвенную вытяжку (одну объемную часть почвы с одной частью воды; смесь автоклавировали, фильтровали и разводили четырьмя частями дистиллированной воды), во втором — 1%-ную агаризованную почвенную вытяжку. Культуры исследовали через 1—3 и 11-12 недель.

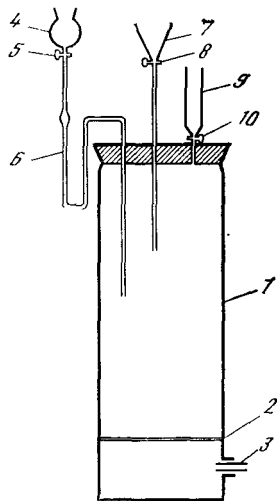
Количество раковинок, подсчитанное на стеклах Джонса и Моллисона, было приблизительно вдвое больше полученного методом почвенных срезов. Это объясняется, вероятно, тем, что раковинки Testacida замаскированы в срезах частицами почвы. Поэтому эта методика применима скорее для изучения микроструктуры почвы, чем для распределения и количества тестаид.

Кроме того, метод Джонса и Моллисона позволяет не только подсчитать более эффективно количество организмов, но и отличать мертвые клетки от живых, что необходимо для выяснения биологической роли Testacida в почвах. Метод, однако, трудоемок, так как максимально было отмечено 26 раковинок на 50 мм², причем большинство из них оказалось пустыми. Видовой состав раковинных амеб, обнаруженных тремя методами, мало различался. Следовательно, небогатенные культуры, преимуществом которых является простота и большое количество получаемых организмов, могут дать достаточно точную картину видового состава почвенной фауны раковинных корненожек.

Однако агаризованная почвенная вытяжка благодаря своим физическим свойствам в большей степени имитирует почвенные условия, поэтому здесь чаще встречаются сравнительно мелкие (до 50—80 мкм), уплощенные организмы типа Centropuxis и Plagiopuxis, адаптированные к почвенным условиям. В жидкой среде более часты крупные, грушевидные раковины типа Diffugia, для развития которых необходимы крупные почвенные поры и высокое содержание влаги. Поэтому в практической работе следует использовать как жидкую, так и агаризованную питательные среды.

Рис. 22. Прибор для флотации почвенной суспензии (из Schönborn, 1966)

- 1 — сосуд,
- 2 — стеклянный фильтр;
- 3 — трубка для подачи газа;
- 4, 5 и 6 — воронка с краном и коленчатой трубкой для регулирования уровня суспензии,
- 7, 8 — воронка и кран для добавления воды;
- 9, 10 — воронка и кран для сбора отфлотированной жидкости с раковинными амёбами



Боннэ и Тома (Bonnet, Thomas, 1958) разработали употребляемый в настоящее время с небольшими изменениями (Decloitge, 1960) флотационный метод извлечения Testacida из почвы, основанный на продувании почвенной суспензии углекислым газом или воздухом. На рис. 22 приводится схема прибора, предложенного Боннэ и Тома (по: Schönborn, 1966). Почвенную суспензию помещают в сосуд (1), в основании которого находится крупнозернистый стеклянный фильтр (2). Через трубку (3) в суспензию подают газ. Воронка (4) с коленчатой трубкой (6) и краном (5) служит для регулирования уровня суспензии. Через воронку (7) в пробу при необходимости добавляют воду. Во время флотации краны (5) и (8) закрыты. Увлекаемые потоком газа раковинки концентрируются в поверхностном слое жидкости, которая при открытом кране (10) выплескивается в резервуар (9). По окончании флотации одновременно прекращается подача газа и закрывается кран (10). Собравшуюся жидкость переливают в чашку Петри для дальнейшего исследования. Интенсивность потока углекислого газа и время его пропускания, а также вес почвенной пробы для приготовления суспензии регулируют в зависимости от характера почвы и обилия в ней раковинных амёб. Из полученного «концентрата» раковинки выбирают под биноклем. Метод применялся Боннэ (Bonnet, 1964) для получения большого количества материала при исследовании видового состава раковинных корненожек.

Отфлотированную суспензию можно поместить в чашку Петри с разграфленным на квадраты дном и,

зная вес почвы, пересчитать количество раковинок на 1 г почвы (Корганова, 1975).

Куто (Coûteaux, 1967) предложила следующую методику окраски и подсчета раковинных амёб, также основанную на принципе флотации. Фиксируют 250 мг свежей почвы в 1 мл жидкости Буэна—Оллауэна в течение одного-двух дней и окрашивают в 3 мл ксилидинового красного (30 мин). Затем суспензию разводят до 250 мл и через нее несколько часов пропускают сильную струю воздуха. 5 мл суспензии из поверхностного слоя фильтруют через мембранный фильтр, который вместе с осевшими на нем раковинками заключают в канадский бальзам, где фильтр становится прозрачным и дает возможность подсчитать раковинки под микроскопом.

Шардэ и Делекур (Chardez, Delecour, 1970) предлагают почвенную суспензию (5 г почвы на 100 мл воды), содержащую раковинных амёб, продувать воздухом в течение 5 мин. Для количественного подсчета раковинки собирают пипеткой с горизонтальным капилляром. Из флотационной жидкости изготавливают мазки, и количество тестаид подсчитывают на площади 9 мм^2 с помощью окуляр-микрометра, затем делают пересчет на всю навеску почвы.

Используемый в работах советских исследователей метод учета почвообитающих раковинных амёб представляет собой модификацию метода окрашенных почвенных мазков, используемого в микробиологической практике (Корганова, Geltzer, 1977).

Для приготовления мазков 5 г свежей почвы или подстилки помещают в колбу с 50 мл воды и оставляют на несколько часов для размокания почвенных частиц. Затем содержимое колбы энергично взбалтывают в течение 10 мин. В стационарных условиях для разрушения комочков почвы и отделения раковинок от почвенных частиц через суспензию можно продувать струю воздуха. Сразу после взбалтывания из центра колбы берут пипеткой одну каплю жидкости объемом 0,05 мл, в которой содержится 5 мг почвы (мазок из более чем 5—10 мг содержит слишком много почвенных частиц, маскирующих раковинки и затрудняющих его просмотр). Каплю суспензии помещают на обезжиренное предметное стекло, добавляют каплю жидкого агар-агара (0,5%), быстро и тщательно перемешивают обе капли препаровальной иглой, распределяя их на площади 8 см^2 (или иной, удобной для пересчета) по подложенному

трафарету со сторонами 4 и 2 см. При подсушивании на воздухе твердые частицы, в том числе и раковинки амёб, плотно приклеиваются к стеклу застывшим агаром, образующим прозрачную пленку. Мазок окрашивают 1%-ным раствором эритрозина в 5%-ной карболовой кислоте в течение часа (перекрашивание ведет к сильному уплотнению и почернению плазмы). Затем отмывают от излишка краски, проводя через несколько сосудов с водой, и просушивают.

Стекло с окрашенным материалом покрывают тонким слоем иммерсионного масла, просветляющего препарат, и помещают на предметный столик микроскопа. Для определения видовой принадлежности и численности просматривают последовательно весь мазок или — при большой плотности раковинок в образце — выборочно несколько полос зрения. Количество встретившихся организмов пересчитывают на 1 г сырой (или, учитывая процент влажности, воздушно-сухой) почвы или подстилки. Плазма живых амёб окрашивается карболовым эритрозином в интенсивно малиновый цвет, что позволяет отличать их от пустых раковинок.

Особенно эффективно применение мазков для учета мелких прозрачных раковинок (10—35 мкм), практически неразличимых при прямом просмотре почвенной суспензии при малых увеличениях, при этом количество учтенных видов повышается в 2 раза, а численность — на порядок. К недостаткам метода можно отнести трудности при определении раковинок с уплощенной брюшной поверхностью: раковинки, лежащие вентральной стороной вниз, плохо различаются между собой, так как не видно строение псевдостома. Поэтому наряду с микроскопированием мазков следует просматривать под биноклем почвенную суспензию, чтобы ознакомиться с видовым составом корненожек с раковинками подобного строения.

Методы фиксации, хранения и лабораторного содержания почвообитающих беспозвоночных

Большая часть почвообитающих беспозвоночных может быть идентифицирована лишь после их фиксации, и только для энхитреид и некоторых групп моллюсков разработаны методы прижизненного определения. Поэтому способ фиксации имеет большое значение как для определения материала, так и для его сохранения в коллекциях.

Фиксация и хранение почвенных беспозвоночных

Для фиксации представителей мезофауны и микроартропод наиболее широко применяются 70—80°-ный этиловый спирт и 4% -ный формалин. При разведении спирта и формалина для приготовления фиксатора необходимо использовать дистиллированную, дождевую или несколько раз прокипяченную воду. В случае разведения этих реактивов жесткой водой часто наблюдается выпадение хлопьевидного осадка, который портит фиксированный материал. Не допускается также использовать воду, окрашенную окислами тяжелых металлов, которая может изменить окраску и структуру покровов животных.

При длительном хранении в спирте или формалине животные теряют упругость покровов и размягчаются либо, наоборот, сморщиваются, становятся хрупкими и ломаются. В таких случаях их идентификация или использование для более тонких морфологических исследований становится невозможным. В настоящее время для отдельных групп почвенных беспозвоночных разработаны специфические методы фиксации с учетом особенностей покровов и структуры животных и рекомендуются различные фиксирующие смеси, составленные на основе растворов спирта либо формалина.

Личинок насекомых с сильно склеротизованными покровами, таких, как проволочники и ложнопроволочники, а также литобиид фиксируют 70°-ным спиртом с добавлением глицерина (2—3%). Глицерин способствует сохранению эластичности покровов. Через 2—3 недели

материал переносят в чистый 70°-ный спирт, в котором он сохраняется годами.

При фиксации личинок насекомых с более мягкими покровами (личинки мягкотелок, жужелниц, азилид) рекомендуется добавлять в спирт некоторое количество формалина для предохранения покровов животных от мацерации. Для длительного хранения эти личинки необходимо через несколько недель перенести в спирт.

Крупные личинки с белыми мягкими покровами (личинки пластинчатоусых, долгоносиков, многих двукрылых) в спирте или формалине темнеют и теряют свою форму вследствие микробиальных и автолитических процессов, развивающихся в их кишечнике после фиксации, пока фиксатор не пронизает все внутренние органы. Поэтому их рекомендуется фиксировать кипятком. Личинок заливают кипящей водой, а после того, как они всплывают, помещают в спирт. При обваривании кипятком происходит свертывание белков, что способствует сохранению формы тела и окраски покровов. Крупные личинки следует поварить в кипятке 2—3 мин. При этом нужно следить, чтобы поверхность воды, в которой варятся личинки, была спокойной. При бурном кипении пузырьки воздуха, выделяющиеся из тканей животных, могут деформировать их тело. При обваривании кипятком у мягких личинок расправляются покровы и на них становятся видны различные структуры, которые трудно заметить на живых или зафиксированных другими способами животных. Часто эти внешние структуры имеют диагностическое значение. Поэтому в некоторых определенных таблицах описание строения животных дается по материалу, фиксированному кипятком (Вгаупс, 1968). После фиксации кипятком личинки рекомендуется некоторое время держать в спирте с примесью формалина, а затем уже переносить их в чистый 70°-ный спирт.

Особые трудности представляет фиксация гусениц. В большинстве своем это формы с мягкими покровами, требующие специальной обработки для сохранения формы тела. Однако фиксация кипятком либо формалином разрушает окраску и рисунок покровов, которые являются важными диагностическими признаками. Для фиксации гусениц предлагается специальная смесь следующего состава: спирт, салициловая кислота, поваренная соль (реактив), дистиллированная вода.

2 г салициловой кислоты растворяют в 100 мл

96°-ного спирта. Раствор смешивают с 100 мл 1%-ного раствора поваренной соли. Этот фиксатор может быть использован через 24 ч после приготовления. В него помещают живых гусениц. Уровень фиксирующей жидкости должен быть не менее чем на 0,5 см выше уровня фиксируемого материала. Фиксатор, как и фиксированный материал, должен храниться в темноте. При этом окраска гусениц сохраняется от 5—6 мес до 5 лет (Мержеевская, 1965).

Для личинок насекомых и многоножек со светлыми или прозрачными покровами рекомендуются также следующие смеси, в которых сохраняются окраска и структура покровов животных без предварительной обработки кипятком:

спирт (96°-ный) — 6 мл, формалин (40%-ный) — 15 мл, ледяная уксусная кислота — 2 мл, дистиллированная вода — 30 мл (van Emden, 1958; Гиляров, 1964);

спирт (96°-ный) — 750 мл, эфир — 250 мл, ледяная уксусная кислота — 30 мл, формалин (40%-ный) — 3 мл (Wallwork, 1970).

Мелкие беспозвоночные, относящиеся к микрофауне, фиксируются при экстракции из почвы 70°-ным спиртом. Для определения и подсчета количества микроартропод и нематод, как правило, практикуется приготовление постоянных или временных препаратов на предметных стеклах. Для определения симфил и простигматических клещей рекомендуется приготовление временных препаратов с лактофенолом, который смешивается с поливиниловым спиртом в отношении 1:1. Этот состав одновременно просветляет покровы и тем самым облегчает определение (Wallwork, 1970).

Для панцирных клещей и коллембол, как правило, используется жидкость Фора—Берлезе, удобная для быстрого приготовления постоянных препаратов: гуммиарабик — 30 г, дистиллированная вода — 50 г, хлоральгидрат — 200 г, глицерин — 20 г. При приготовлении этой смеси гуммиарабик заливают сначала водой и выдерживают в термостате при 37°С до полного растворения. Затем добавляют глицерин и хлоральгидрат и эту смесь еще 2 сут выдерживают в темном месте, а затем фильтруют через стеклянную вату. При использовании жидкости Фора—Берлезе в препараты можно заливать животных после первичной фиксации их спиртом без предварительного обезвоживания (Гиляров, 1964).

Постоянные препараты микроартропод, однако, редко

полностью удовлетворяют требованиям систематиков. При микроскопическом изучении материала некоторые детали строения животных невозможно рассмотреть. Поэтому в последнее время все шире распространяется применение временных препаратов на предметных стеклах с выемкой. Выемка неполностью прикрывается покровным стеклом, и в это открытое пространство пипеткой вносят каплю молочной кислоты или глицерина. Животных помещают в эту каплю рядом с краем покровного стекла.

При микроскопическом изучении животных их можно поворачивать легким движением покровного стеклышка либо тонкой препаровальной иглой. После этого животных снова можно возвращать в спирт или другой постоянный фиксатор. Коллекции клещей рекомендуется хранить в жидкости, состоящей из одной части глицерина и девяти частей 70°-ного спирта. Клещей помещают в полиэтиленовые микропробирки, заполненные до краев этой жидкостью (Bagg, 1973). Длительное хранение в молочной кислоте не рекомендуется в последнее время, так как животные в ней становятся хрупкими и со временем у них могут отламываться хеты, конечности и другие детали, необходимые для идентификации.

Моллюсков перед фиксацией помещают в сосуд, до краев заполненный кипяченой водой и закрытый крышкой. При этом моллюски высовываются из раковин и в таком положении погибают от недостатка кислорода. После этого их фиксируют в спирте, сначала сильно разведенном, а затем переносят в растворы все повышающейся концентрации. После этого моллюски могут долго храниться в 70—80°-ном спирте. В их теле содержание воды очень высокое, поэтому если моллюсков поместить сразу в 70°-ный спирт, они могут отдать всю воду, сморщатся и станут непригодными для определения.

Дождевых червей фиксируют слабым раствором формалина, в котором они сначала очень активно двигаются, извиваются и затем погибают в скрученном состоянии. Сразу после того, как животные перестанут двигаться в растворе, их надо вынуть, расправить на фильтровальной бумаге и ваткой стереть слизь. Через несколько минут, когда черви несколько подсохнут и зафиксируются в расправленном состоянии, их помещают в длинные химические пробирки, с 4%-ным раствором формалина, в котором они долго сохраняют форму тела и могут использоваться для морфологических исследований (Малевич, 1951).

Энхитренд перед фиксацией обездвигивают в воде с добавлением спирта. Затем их убивают 4%-ным формалином. Фиксация проводится в течение 24 ч в плоских чашках. Фиксированные таким образом энхитреиды долго могут храниться в 70°-ном спирте. Для фиксации этих червей используется в некоторых случаях смесь из ледяной уксусной кислоты (3 мл) и абсолютного спирта (9 мл).

Мермитиды, обнаруженные в почве, фиксируются в 40°-ном спирте либо 3—4%-ном формалине, либо в специальной смеси — жидкости Барбагалла следующего состава: 100 мл дистиллированной воды, 30 мл 40%-ного формалина, 8 г поваренной соли (реактив). Эта смесь представляет собой изотонический раствор, в котором мермитиды сохраняют эластичность покровов и окраску. В почве эти черви встречаются в сильно скрученном состоянии. Поэтому перед фиксацией их необходимо расправлять. Расправление проводится в воде при нагревании до 40° С. К воде иногда прибавляют 1% хлоралгидрата. При этом мышцы червей расслабляются и черви растягиваются. Процедура растягивания длится около часа. У нерасправленных червей покровы затвердевают и становятся хрупкими. Если они были зафиксированы в нерасправленном состоянии, их следует растягивать в смеси 35—50°-ного спирта с молочной кислотой в отношении 1 : 1 в течение 18—24 ч. Затем червей отмывают от молочной кислоты спиртом (Положенцев, Артюховский, 1963).

Почвенных нематод перед фиксацией расправляют путем нагревания либо замораживания. При этом мускулатура червей расслабляется и они сохраняют в фиксаторе естественную форму тела. Нагревание рекомендуется проводить при 43° (Hrzic, 1971). При работе с единичными экземплярами их можно нагревать в капле воды на предметном стекле над пламенем спиртовки (5-6 сек). При фиксации массового материала его нагревают в пробирке на водяной бане при 65—75° 2—5 мин.

Замораживание нематод проводят в жидком азоте (Hoff, Mai, 1964): 5 мл водной суспензии нематод погружают в 20 мл жидкого азота. В таком состоянии при —35° С животные могут храниться несколько месяцев.

Кроме того, для умерщвления нематод перед фиксацией применяют следующие методы:

1. Раствор Люголя (0,1 г йода, 0,2 г йодистого калия, 100 мл дистиллированной воды) В водную суспензию

нематод добавляют равный объем раствора Люголя (Staniland, 1950).

2. Горячая уксусная кислота. Пипетку с 2 мл 0,5%-ной уксусной кислоты опускают в кипящую воду. При нагревании до 90°С из кислоты начинают выделяться пузырьки. При этом кислоту выливают из пипетки в каплю воды с нематодами (Seinhorst, 1962, 1966).

Лучший результат дает формалин-уксусная смесь (4:1) либо смесь формальдегида (4 части), пропионон-ной кислоты (1 часть) и 95 частей воды (Seinhorst, 1966; Netscher, Seinhorst, 1969).

Нематод фиксируют 2—4%-ным формалином. Но образующаяся со временем муравьиная кислота способствует мацерации животных тканей. Поэтому для лучшей сохранности материала используются различные формалиновые смеси: 1) формалина с углекислым калием; 2) 30%-ный раствор формалина в физиологическом растворе; 3) 40%-ный формалин с этаноламином в воде (7:2:91); 4) 40%-ный формалин (10 мл), ледяная уксусная кислота (0,5—1 мл), дистиллированная вода (80 либо 89 мл); 5) 40%-ный формалин (10 мл), глицерин (1 мл), дистиллированная вода (89 мл); 6) фиксатор Дитливсена: 95%-ный спирт (20 мл), 40%-ный формалин (6 мл), ледяная уксусная кислота (1 мл), дистиллированная вода (40 мл) (Courtney, Polley, Miller, 1955; De Grisse, 1969; Thorne, Swanger, 1936). Через 6 мес нематод переводят из формалина в 70%-ный спирт после промывания (Филипьев, 1934).

Кроме того, нематод можно фиксировать в 70%-ном спирте, нагретом до кипения, и хранить в нем (Филипьев, 1934) либо в горячей смеси 60—70%-ного спирта с 5—10%-ным глицерином (Filipjev, Stekhoven, 1941).

Почвенных простейших фиксируют парами осмиевой кислоты (1%-ный водный раствор OsO_4) в течение 1-2 мин либо фиксатором Шаудина. Фиксатор представляет смесь 2 г насыщенного раствора сулемы (раствор 70 г сулемы в 1 л дистиллированной воды) и 1 г абсолютного спирта, применяется в нагретом (до 50—60°С) состоянии.

Ядра клеток простейших окрашивают 0.1%-ным раствором метилгрюна в 1%-ной уксусной кислоте (по Роскину, 1946). Реснички и жгутики окрашивают йодом (несколько капель настойки йода на 10 мл воды).

Для лучшего выявления ресничного аппарата добавляют 2—4%-ный раствор соды.

Постоянные препараты простейших приготавливаются в глицерин-желатине: 7 г желатина в течение 2 ч растворяют в 42 мл дистиллированной воды, затем добавляют 50 г глицерина и 0,5 г кристаллической карболовой кислоты. Нагревают эту смесь на водяной бане и фильтруют в горячем состоянии. Раковинки поодиночке переносят в капли глицерина, а оттуда — в глицерин-желатин. Препарат закрывают покровным стеклом, подкладывая под него «ножки» по углам. Края стекла покрывают парафином или асфальтовым лаком. Последний готовят из 2 г расплавленного воска, подогретого перед употреблением с 7—9 г канифоли (Роскин, Левинсон, 1957).

При приготовлении постоянных препаратов в канадском бальзаме раковинки корненожек предварительно промывают в 70°-ном спирте, окрашивают борным кармином. Затем материал проводят через 90°-ный и абсолютный спирт и ксилол (Роскин, 1946).

Содержание и культивирование почвенных беспозвоночных в лаборатории

Наблюдения за особенностями питания и ростом почвенных беспозвоночных и различные экспериментальные исследования требуют длительного содержания и даже культивирования животных в лабораторных условиях. Многие почвенные животные легко переносят пребывание в лаборатории в течение нескольких месяцев и даже лет. Основные условия их содержания — достаточное количество необходимой пищи, поддержание нужного уровня температуры и влажности и наличие субстрата, служащего укрытием (почва, опад, разрушенная древесина). Представители ряда мелких групп животных — коллемболы, клещи, энхитреиды — культивируются в лаборатории на естественных и искусственных питательных средах). Для каждой группы беспозвоночных разработаны специальные методы лабораторного содержания и культивирования с учетом их экологических требований и пищевой специализации. Ниже приводятся описания некоторых методов культивирования почвенных беспозвоночных сапрофагов на естественных средах. Кроме того, для представителей ряда групп разработаны синтетические и полусинтетические среды, используемые при разведении миссового материала, которые здесь, однако, не рассматриваются.

Дождевые черви. Из дождевых червей в культуре содержали компостного червя *Eisenia foetida*, который легко размножается в лабораторных условиях. Методы культивирования компостного червя были разработаны О. Граффом (см.: Graup, 1968).

Червей содержали в кубических деревянных ящичках со стенками длиной 25 см. На дне были проделаны маленькие отверстия для увлажнения почвы и субстрата снизу. Ящички заполнялись на 2 см грубым песком. Сверху песок покрывали слоем соломенной сечки с просеянной садовой землей или лесным перегноем, которые заполняли ящичек на $\frac{1}{3}$ глубины. Сверху на почву помещали слой свежего навоза (коровьего, конского или свиного), и в него вносили около сотни взрослых червей. Ящички закрывали сверху и держали при температуре 22—25° С. Через две недели содержимое ящичка высыпали и выбирали оттуда коконы дождевых червей. Коконны помещали в такие же ящички по несколько штук и через несколько дней из них выходили молодые особи. При длительном разведении компостных червей следует регулярно просматривать содержимое ящичков, менять навоз и отсаживать молодых червей от взрослых особей. При повышенной плотности взрослые черви могут уничтожить свое потомство. Необходимо следить, чтобы вместе с навозом не попали в ящички яйца двукрылых и других насекомых, развивающихся в навозе, личинки которых могут нанести ущерб дождевым червям.

Энхитриды. Энхитрид можно длительное время содержать в лабораторных условиях большими группами в деревянных ящичках с перегноем. Ящички закрывают сверху и 1-2 раза в месяц перегной слегка увлажняют. Оптимальные температуры для содержания энхитрид 17-18°.

При культивировании энхитрид хорошей средой является также гомогенизированный грубый гумус из елового леса. Для приготовления этого субстрата грубый гумус высушивают при 50° С, растирают в ступке и просеивают через сито с отверстиями 2 мм. 10 г воздушно-сухого материала помещают в стаканы емкостью 150 мл. Влажность субстрата должна составлять 50—96% от полной влагоемкости. Периодическое увлажнение производится дважды в неделю. В эти сосуды помещают по 10 энхитрид. Животные хорошо растут и размножаются на этой среде (Abrahamsen, 1971). Энхитрид можно культивировать также на агаре в чашках Петри. Пред-

варительно на этой среде выращивают бактериальные или грибные пленки. Когда пленки покроют всю поверхность агара, туда помещают энхитреид по одному экземпляру, а через месяц их пересаживают в другую чашку со свежей культурой. Этот способ используется в исследованиях пищевой специализации энхитреид и позволяет контролировать их рост и развитие при разных сочетаниях грибных и бактериальных культур.

Нематоды. Свободноживущих почвенных нематод можно культивировать в нестерильных условиях на эмпирически подобранных питательных средах или бактериальных и грибных культурах. В качестве питательных сред использовались крупные яйца, агар с кусочками листьев и корешков, с овощами или мелко изрубленным сырым мясом, песок с кусочками дождевых червей, почва с кусочками сырой печени, куриный белок с таннином и кофеином, соком репы, моркови, томатов и молоком и др. (Турлыгина, 1963).

Среди бактериальных культур для разведения нематод были успешно использованы *Bacillus megaterium*, *B. cereus*, *Escherichia coli*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas maltophila*, а также дрожжи *Sachharomyces cerevisiae*, *Proteus vulgaris* и *P. zymosiphilus* (Drobkin, 1966; Sohlenius, 1968a, b).

Для культивирования нематод в качестве пищевого субстрата рекомендуются также различные грибы — плесени, шампиньоны, микоризы, морские грибы. Нематоды проявляют четкую избирательность в отношении вида грибов. В обзорной статье Н. А. Костюк (1971) приведены данные по видовому составу грибов, которые используются для разведения отдельных видов свободноживущих нематод, а также некоторых неспециализированных фитопаразитов. Грибные культуры выращивают на таких субстратах, как сусло-агар, картофельный агар с глюкозой и сахарозой, кукурузный и мясо-пептонный агар. Вносить животных рекомендуется тогда, когда вся поверхность субстрата покроется грибной пленкой. При длительном культивировании не реже одного раза в месяц следует переносить животных в чашки со свежей питательной средой.

Мокрицы. Мокриц можно содержать большими группами в стеклянных банках или кристаллизаторах с почвой (или песком) и листовым опадом, взятым из тех же местообитаний, где были собраны животные. Мокрицы питаются разлагающейся листвой и сильно разрушенной

древесиной. Вместе с растительными тканями они захватывают частички минерального грунта и экзвунн, остающиеся после линьки, восполняя тем самым потребность в соединениях кальция (Striganova, 1967). Поэтому при длительном содержании этих животных в лабораториях необходим минеральный субстрат. В случае его отсутствия у мокриц учащаются случаи каннибализма и они могут уничтожить все появляющееся потомство. Молодых особей, только что вышедших из яиц, рекомендуется отсаживать в отдельные банки.

Мокрицы не очень чувствительны к перепадам влажности среды и хуже переносят избыток влаги, чем ее недостаток. В природных условиях при пересыхании почвы они переходят от сапрофагии к фитофагии и питаются корнями и надземными сочными частями травянистых растений, чтобы восполнить недостаток влаги (Гиляров, 1970). В лабораторных культурах при недостаточной влажности листового опада мокрицы охотно питаются кусочками моркови, картофеля, яблок. При увлажнении сосудов с мокрицами нужно следить за тем, чтобы на опаде не было капельной влаги, и увлажнять лишь поверхность почвы или песка не чаще одного раза в неделю. В сосуде следует постоянно держать ломтики моркови или картофеля и менять их через 1-2 дня. Мокрицы потребляют эти сочные ткани и при достаточной влажности, восполняя потребность в витаминах и сахарах. Растительный опад нужно менять один раз в 7—10 дней и убирать несъеденные остатки и накопившиеся экскременты. Сосуды с животными закрывают стеклом и ежедневно проветривают. Оптимальные температуры для содержания мокриц в лаборатории 18—22° С.

Диплоподы. Правила содержания диплопод и мокриц в лаборатории во многом сходны. Диплопод содержат также большими группами в стеклянных сосудах с почвой и листовым опадом. Однако в лабораторных условиях многие виды не размножаются и не линяют. Это объясняется, по-видимому, их высокой чувствительностью к температурному режиму. Длительное содержание в лаборатории при постоянной температуре уже через 6-7 недель приводит к заметному снижению пищевой активности диплопод. При этом животные могут продолжать жить и питаться еще несколько месяцев, но заметно теряют в весе. При количественных определениях показателей пищевой активности у диплопод рекомендуется поэтому использовать животных, содержащихся в лабора-

тории не более двух недель. Менее чувствительны к постоянной температуре молодые особи, которые дольше, чем взрослые, активно питаются и линяют. Для поддержания трофической активности диплопод на уровне, необходимом для нормального роста и развития, следует имитировать суточные и сезонные колебания температуры, характерные для тех местообитаний, где были собраны животные. При содержании в лаборатории многие виды диплопод в зимний период прекращают питание. В этом случае животных следует поместить в холодильник на 1,5—2 мес., а затем снова в комнатную температуру, и они начинают активно питаться.

При содержании и разведении диплопод в лаборатории следует регулировать их плотность в сосудах в расчете на площадь дна. Оптимальные уровни плотности существенно отличаются у разных видов, что определяется характером их распределения в природных условиях. Для таких видов, как *Amblyiulus continentalis*, *Pachyiulus foetidissimus*, *P. flavipes*, характерно агрегированное распределение (Стриганова, 1969, 1971). В лабораторных условиях они могут нормально питаться и расти при высокой плотности. При одиночном содержании скорость потребления пищи у них снижается в 2—3 раза и при этом наблюдается потеря веса. В сосудах эти кивсяки обычно напозаают друг на друга и при большой площади дна они концентрируются в одном ограниченном участке. В кристаллизаторах с диаметром дна 20—22 см рекомендуется содержать по 200—300 особей *Amblyiulus continentalis* и по 50—100 представителей крупных видов из рода *Pachyiulus*.

Такие диплоподы, как разные виды *Polydesmus*, *Chromatoiulus*, *Julus colchicus*, *Schizophyllum caspium*, *Unciger foetidus*, распределяются в лесной подстилке более равномерно. В опытных сосудах они также равномерно распределяются по всей площади дна. В кристаллизаторы с диаметром 20—22 см следует помещать не более 50 особей этих видов, чтобы диплоподы не касались друг друга при передвижениях в растительном опаде.

Личинки насекомых. Среди почвообитающих личинок жесткокрылых и двукрылых имеется большое количество сапрофагов и форм со смешанным питанием. Они хорошо переносят, как правило, содержание в лабораторных условиях и нормально развиваются от яйца до имаго.

У многих почвенных насекомых яйца в период эмбрионального развития абсорбируют воду. Развитие их протекает лишь при условии непосредственного контакта с влагой. Поэтому при выведении личинок яйца следует помещать на фильтровальную бумагу, один конец которой погружен в воду. Воду и фильтровальную бумагу нужно менять через каждые 3—5 дней для предотвращения развития плесневых грибов.

Личинок жесткокрылых рекомендуется держать в закрытых стеклянных пробирках (химических или гистологических) либо в почвенных стаканчиках с песком и тем субстратом, в котором они обитают в природных условиях (почва, богатая органикой, перегной, разрушенная древесина, мох, детрит, лиственной и хвойный опад, высшие грибы, грибные бактериальные пленки). Предпочтительнее одиночное содержание личинок, так как они нередко поедают или ранят друг друга, хотя и не являются хищниками. Пищевой субстрат сменяют через каждые 5—7 дней. В эти же промежутки увлажняют и песок через стеклянную трубочку, опущенную почти до дна сосуда. При выведении личинок, обитающих в относительно сухой древесной трухе или на поверхности почвы, песок нужно увлажнять не чаще двух раз в месяц. При этом поверхность субстрата, в котором живут личинки, покрывают смоченной в воде и хорошо выжатой ватой для поддержания влажности воздуха в сосуде около 100% (Стриганова, 1966).

У некоторых личинок жуков в разных возрастах требования к влажности среды резко изменяются. Например, у представителей *Alleculidae*, развивающихся в древесной трухе (*Pseudocistela*, *Prionychus*), личинки всех возрастов, кроме последнего, питаются почти воздушно-сухой трухой и гибнут при малейшем переувлажнении. Перед окукливанием эти личинки опускаются в более сырые участки пней и стволов деревьев. При выведении в сосудах они опускаются в нижний слой трухи, касающийся сырого песка. Личинки уплотняют частички древесины вокруг себя и в этих колыбельках окукливаются. При выведении личинок *Alleculidae* в пробирках слой древесной трухи должен иметь толщину не менее 5-6 см для поддержания определенного градиента влажности.

Для получения яиц шелкоунов большие партии взрослых жуков помещают в садки с небольшим количеством почвы и зелеными ветками либо со стеблями кукурузы и других злаков. Отложенные яйца выбирают из почвы,

просеивая через сито с мелкими отверстиями (0,25 мм). Яйца стерилизуют раствором гипохлорита натрия и помещают в сосуды с влажной почвой или фильтровальной бумагой для выведения личинок.

Личинок щелкунов рекомендуется выводить в химических пробирках или гистологических стаканчиках с увлажненным песком либо стерилизованной почвой. В качестве пищи используются проросшие зерна пшеницы или ячменя (Космачевский, 1958; Долин, 1964, 1974). Песок и корм требуется менять через 3—6 дней. Личинок хрущей содержат в стеклянных банках емкостью 1—3 л небольшими группами. В лаборатории они охотно питаются корнями травянистых растений либо морковью (Космачевский, 1958). Личинки многих жуков хорошо развиваются при комнатной температуре.

Многие личинки жуков, питающиеся живыми или разлагающимися растительными тканями, в старших возрастах нуждаются в белковой пище. При выведении в лаборатории на одной растительной пище они не окукливаются и погибают. Поэтому личинкам таких групп жесткокрылых, как щелкуны, пыльцееды, некоторые чернотелки, необходимо наряду с обычным кормом давать перед окукливанием и животную пищу — кусочки дождевых червей, энхитреид, личинок долгоносиков или вареный белок куриного яйца.

Куколок жесткокрылых можно держать в чашках Петри на влажной фильтровальной бумаге или во влажной почве. Во втором случае следует делать пещерку, уплотняя почвенные частицы.

Среди личинок двукрылых, питающихся растительными остатками, многие группы легко выводятся в лаборатории. Например, личинок тигулид и бибионид можно воспитывать большими группами в закрытых стеклянных банках или кристаллизаторах с почвой и листовым опадом. Эти личинки легко переносят большие перепады влажности среды, но при наличии капельной влаги на листе они прекращают питание. Опад нужно менять через каждые 3—5 дней и при этом убирать несъеденные остатки и экскременты. Почву следует увлажнять 1-2 раза в месяц. Личинки тигулид и бибионид скелетируют листья и поедают мелкие листовые жилки. Центральные жилки и черешки листьев они оставляют. В периоды пищевой активности личинки тигулид распределяются по всему слою лесной подстилки, а личинки бибионид постоянно остаются на поверхности почвы или в

ее верхнем слое и питаются листовыми тканями, непосредственно соприкасающимися с почвой. При выведении в лаборатории больших групп личинок типулид следует постоянно поддерживать толщину слоя растительного опада не менее 5 см. Для личинок бибионид важнее не объем подстилки, а площадь поверхности почвы, соприкасающейся с опадом. При выведении этих личинок в лаборатории в стеклянных сосудах уровень плотности бибионид на площади дна должен соответствовать наблюдающемуся в природных условиях. Эти насекомые одинаково чувствительны и к слишком низкой и к повышенной плотности, что заметно отражается на их пищевой активности и темпах роста. Личинок типулид и бибионид рекомендуется кормить смесью листового опада четырех-пяти пород, сочетая листву хрупких и твердых пород.

Воспитание личинок следует проводить при температурах, не превышающих 25°. При более высоких температурах они быстро окукливаются и линяют на имаго, но не достигают массы, характерной для личинок старших возрастов, развивающихся в природных условиях.

Специфические методы культивирования разработаны для микроартропод. Многие виды клещей и коллембол хорошо переносят лабораторные условия, и их можно культивировать большими группами в течение многих поколений. Для всех видов микроартропод, разводимых в лаборатории, характерна высокая чувствительность к влажности среды, что должно учитываться при выборе субстрата для их содержания и поддержания гидротермического режима в сосудах с культурами.

Коллемболы. В литературе описаны методы группового и индивидуального культивирования коллембол (Gatho, 1961; Petersen, 1971). Их выращивают в стеклянных или пластиковых бюксах с толстым слоем гипса на дне. Рекомендуется смешивать гипс с углем в отношении 9 : 1 для создания темной окраски субстрата, иммигрирующего почву. Смесью гипса с углем заливаются водой, и полужидкой массой заполняют нижнюю часть бюкса. Толщина гипсового слоя должна быть не менее 1 см. Гипсовый слой следует регулярно увлажнять несколькими каплями воды для поддержания относительной влажности воздуха на уровне 100%. Коллембол кормят культурами разных видов грибов и дрожжей. В большинстве случаев в качестве корма используются виды, выделенные из почвы, взятой в тех же участках, что и коллем-

болы. Грибы и дрожжи выращиваются на агаре или растворе биомальца, а затем грибные пленки переносят на поверхность влажного гипсового слоя стерилизованной стеклянной палочкой. Корм в бюксах надо менять раз в 5—7 дней. При этом рекомендуется промывать несколькими каплями дистиллированной воды те места на поверхности гипса, где находились грибы и дрожжи, избыточную влагу убирать фильтровальной бумагой, бюксы закрывать стеклянными крышками. Культуры коллембол следует проверять, увлажнять и проветривать не реже двух раз в неделю. При длительном культивировании нужно регулировать численность животных в сосудах. Различные авторы рекомендуют содержать культуры коллембол при разных температурах — от 15 до 22° С.

Для регулярных наблюдений за ростом и развитием отдельных особей Петерсен (Petersen, 1971) предложил модификацию метода лабораторной культуры: в бюкс с еще не затвердевшей смесью гипса с углем вставляют стеклянную трубочку диаметром 8 мм, длиной 42 мм так, что она почти касается нижним концом дна бюкса. Трубочку заполняют этой же гипсовой смесью, оставляя сверху 1 см свободного пространства. Трубочку закрывают сверху резиновой пробкой. В нее помещают коллембол по одному—четыре экземпляра и пищевой субстрат в количестве не более 0,5 мг, который переносят стерилизованной иглой. Смена пищевого субстрата и проветривание трубки проводятся 1—2 раза в неделю. Воду для увлажнения среды наливают на поверхность гипса у краев бюкса. Влага пропитывает весь гипсовый слой и поступает в трубку снизу. Петерсеном было успешно осуществлено индивидуальное культивирование коллембол *Onychiurus fuscifer* при кормлении их дрожжами *Candida* sp., выращенными на агаре.

Панцирные клещи. Для культивирования орибатид также рекомендуются сосуды с гипсовым слоем, значение которого заключается преимущественно в регуляции режима влажности внутри сосуда. Величина сосудов определяется размерами и численностью животных в культурах. Для разведения орибатид большими группами — до 1000 экз. — предлагаются стеклянные трубки диаметром 3—4 см, один конец которых залит слоем гипса толщиной 1,5—2 см. Другой конец трубки закрывается ватной пробкой. В стенке трубки оставляют отверстие, затянутое мельничным газом для аэрации, увлажнение гипса

производится снизу (Ситникова, 1959). Клещей можно культивировать также в стеклянных бюксах диаметром 3 см, высотой 2 см со смесью гипса и угля на дне. Бюксы закрывают сверху либо целлофаном, либо несколькими слоями фильтровальной бумаги и ежедневно увлажняют поверхность гипса (Bhattacharyya, 1962; Jalil, 1972). Пищей в таких культурах служат разлагающиеся растительные остатки (гнилая древесина, опад), кусочки коры, обросшие мхом, ломтики картофеля, грибы, развивающиеся на растительных остатках. Пищу следует менять не реже чем через 2-3 дня.

Метод индивидуального культивирования орбитид был разработан Майклом (Michael, 1884—1888), сконструировавшим маленькие стеклянные камеры размером 1,5—2×0,9 см, дном которых является предметное стекло. Позже появились различные модификации камеры Майкла—восковые камеры Шульца (размер 4×1,5 см) и гипсовые камеры Паули (2×2×1 см). Камеры с материалом закрывают покровными стеклами и помещают в эксикатор, в котором поддерживается 100%-ная влажность воздуха. Аэрация камер осуществляется либо через отверстия в стенках, либо путем ежедневного проветривания. В камеры помещают растительные остатки либо культуры грибов для питания клещей. Клещи хорошо растут и развиваются при кормлении плесневыми грибами *Trichoderma viride* и *Rhizopus nigricans* (Farahat, 1966). Для поддержания нужного уровня влажности на дно камер кладут кусочки влажной фильтровальной бумаги, которые меняют вместе с кормом через каждые 2 сут. Для культивирования отдельных групп клещей рекомендуют разные температуры—от 7 до 25°С. Оптимальная температура определяется эмпирически, в соответствии с температурным режимом тех почв, откуда взят исходный материал.

Во многих случаях как популяции почвенных беспозвоночных одного вида, так и смешанные популяции разных видов в течение длительного времени можно содержать в вегетационных сосудах, засаженных растениями. В этом случае в сосуде должен быть обеспечен дренаж, полив должен проводиться дозированным количеством воды не только через поверхность почвы, но и глубокий, через дренажные трубки, согнутые у нижней границы почвы под прямым углом. Оптимальная влажность почвы для содержания большинства почвенных беспозвоночных 50—60% от полной влагоемкости.

Методы эколого-физиологических исследований почвенных беспозвоночных

ГЛАВА 1

Методы определения биомассы почвенных животных

Биомассу почвенных беспозвоночных можно определять путем прямого взвешивания организмов, а также при помощи косвенных методов. Наиболее точным является метод прямого взвешивания. При определении биомассы необходимо учитывать все возрастные классы животных конкретной популяции. Взвешивать животных следует возможно быстрее после изъятия из почвы во избежание высушивания. Крупные пауки за 10 ч теряют 10% массы, муравьи — 20%, а мелкие пауки, личинки цикадок, тли за 30 мин теряют 5% сырой массы при температуре 20°; чернотелки и жужелицы, имеющие плотные хитинизированные покровы, теряют за 20 ч 5% массы (Второв, 1971).

Однако часто в полевых условиях взвешивать материал не представляется возможным и приходится определять биомассу фиксированного в спирте или формалине материала. Массы фиксированных и живых организмов, как правило, не совпадают, поэтому при работе с консервированным материалом необходимо вводить поправочные коэффициенты, учитывающие изменение массы при фиксации. Например, у дождевых червей потеря массы при фиксации их в 4%-ом растворе формалина составляет примерно 10% от живой массы (Мазанцева, 1976; Raw, 1962). У кивсяков *Pachyiulus foetidissimus* при хранении их в 70°-ом спирте потеря массы составляет около 11% от их живой массы (Striganova, Mazantseva, 1979). Масса коллембол, помещенных в 70°-ный спирт, уменьшается в 2 раза по сравнению с

массой живых животных (Chernova, Vyzova, Chernova, 1971). Необходимо также определять оптимальное время для взвешивания фиксированного материала, когда индивидуальные колебания ее минимальны. Например, у дождевых червей в формалине колебания массы стабилизируются уже через сутки после помещения их в фиксатор (Мазанцева, 1976). У кивсяков в спирте — через 10 сут (Striganova, Mazantseva, 1979).

При работе с фиксированным материалом перед взвешиванием организмы должны быть освобождены от наружной влаги. При этом необходимо избегать потери той влаги, которая входит в состав тела и начинает испаряться сразу после удаления наружной влаги. Особенно это касается мелких представителей почвенной фауны. Время прекращения испарения наружной влаги и начала потери животными внутренней влаги определяется специальным методом (Резвой, Ялынская, 1960): животных из фиксатора помещают на весы и через небольшие промежутки времени снимают показания. Сначала уменьшение массы животных происходит довольно быстро. После того, как испарится вся наружная влага, наступает небольшая, но хорошо заметная пауза в изменении массы. Затем потеря массы продолжается более медленно за счет испарения внутренней влаги. Масса животного в момент замедления падения массы соответствует ее истинной величине. Этот метод весьма трудоемок. Г. Г. Винберг (1968) предлагает обсушивать материал на фильтровальной бумаге до исчезновения на ней мокрых пятен; обсушивание материала должно длиться не больше 1 мин.

При взвешивании крупных животных необходимо учитывать вес содержимого желудков и кишечника. Так, у дождевых червей масса кишечника достигает 26—41% от общей массы тела (Grant, 1955; Satchell, 1969). Определение массы животных без учета массы пищи при большой величине рациона дает большую ошибку.

Содержание воды в теле почвенных беспозвоночных колеблется в довольно больших пределах — от 35 до 90% (табл. 3). Установлены широкие индивидуальные колебания содержания воды в теле животных в зависимости от влажности почвы (Кудряшева, 1982). Поэтому параллельно с определением сырой массы необходимо также проводить определение сухой массы.

Содержание воды в теле различается у представителей разных видов или более крупных систематических

Таблица 3. Содержание воды в теле различных почвенных беспозвоночных

Группы беспозвоночных	Содержание воды, % от сырой массы	Автор, год
Lycoriidae, larvae	79,3	Chernova et al., 1971
Tendipedidae, larvae	81,6	»
Muscidae, larvae	81,6	»
Scatopsidae, larvae	83,3	»
Collembola	75—83	»
Oribatei	35,5—88,4	Luxton, 1975
Uropodina	42	Chernova et al., 1971
Nematoda	58,5	Yeates, 1972
Lumbricidae	87	Абатуров, 1966
Голые слизни	80	Чернов, 1975
Раковинные моллюски (без веса раковинки)	85	»
Aranei	70—75	Chernova et al., 1971
Diplopoda	61,9—71,7	Мазанцева, 1976, 1977
<i>Pheretima hupeiensis</i>	82,3±1,18	Grant, 1955
<i>Allolobophora caliginosa</i>	85,0±1,26	»
<i>Eisenia foetida</i>	84,1±3,61	»

таксонов почвенных беспозвоночных, а также у разных возрастных групп популяции одного вида. Например, у большинства орибагид содержание воды составляет 50—70%. Однако у различных видов клещей отмечаются большие различия этого показателя — от 88,4% у личинок *Damaeus clavipes* до 35,5% у протонимф *Ceratozetes gracilis* (Luxton, 1975). У кивсяков *Pachyiulus flavipes* средняя сухая масса составляет 36% по отношению к живой; однако у животных массой 300—2000 мг этот показатель равен приблизительно 37%, а у особей свыше 2000 мг — 29% (Мазанцева, 1976). Соотношение сухой массы и сырой может изменяться в течение жизненного цикла (Geoffroy, 1979), и это также необходимо учитывать.

В литературе можно найти данные о соотношении сырой и сухой массы для некоторых групп почвенных беспозвоночных (табл. 4). К сожалению, таких данных мало.

Для определения сухой массы животных высушивают при температуре 50—105° до постоянной массы. Величи-

Таблица 4. Соотношение сырой (W) и сухой (W') массы у некоторых беспозвоночных животных

Группы беспозвоночных	Формула	Автор, год
Isopoda	$W' = 1,56W - 1,24$	Petrusewicz, Macfadyen, 1970
Aranea	$W' = 0,429W^{0,86}$	Breymeyer, 1967
Lepidoptera larvae	$W' = aW^{1,1094}$	Bullock, Smith, 1971
Lumbricus terrestris	$W' = W \cdot 6,37$	Lakhani, Satchell, 1970
Lithobius forficatus	$W' = 0,271W - 0,177$	Geoffroy, 1979

ны сухой массы, полученные при разных температурах, отличаются друг от друга. Так, Н. М. Чернова с соавторами (Chernova et al., 1971) отмечает, что величины сухой массы, полученные ими для уроподовых клещей, примерно вдвое ниже, чем те, которые приводит Эдвардс (Edwards, 1967) для этих же животных, и относит такие различия за счет разницы в температуре, при которой проводилось высушивание (при 105° в их работе и при 80° у Эдвардса). При высокой температуре происходит разрушение белков и других органических соединений, входящих в состав тела. Петерсен (Petersen, 1975) предлагает высушивать коллембол в вакуумной печи при температуре 60° и давлении 100 мм рт. ст. в течение 24 ч.

Во многих случаях трудности прямого взвешивания не оправданы, а при работе с такими мелкими объектами, как клещи, коллемболы, нематоды, простейшие, часто бывает технически невозможно определить массу отдельных животных непосредственным взвешиванием. В таких случаях прямое взвешивание объектов предпочтительнее заменять косвенными расчетами.

Разными авторами предлагались различные косвенные методы определения биомассы: определение средней массы различных видов животных и использование их в дальнейших расчетах (Bornebusch, 1930; Nielsen, 1955); установление массы животных с использованием объема и удельного веса (Van der Drift, 1951; Macfadyen, 1952; Kühnelt, 1960; Bouché, 1966; Heal, 1970). Эти методы дают возможность довольно грубо определять величину биомассы. Тем не менее они позволили получить приближенное представление об уровне биомассы почвенной микрофауны.

Наиболее точным косвенным способом определения биомассы является метод, использующий связь между линейными размерами и массой организма. В некоторых случаях формула, описывающая эту связь, включает длину и ширину животного, в других — участвует только длина:

$$W = a(l + k); \quad W = bl^c; \quad W = bl^c L^d,$$

где W — сырая масса, l — длина тела, L — ширина тела, a, b, c, d, k — константы для данного вида или группы видов, которые должны быть определены эмпирически.

Рассмотрим более подробно применение этой зависимости для определения биомассы разных групп почвенных беспозвоночных.

Мезофауна. Наличие степенной зависимости массы тела от линейных размеров установлено для нескольких видов дождевых червей (Abrahamsen, 1973; Мазанцева, 1975) и диплопод (Мазанцева, 1976; Striganova, Mazantseva, 1979) (табл. 5).

Для нескольких видов диплопод определены параметры степенного уравнения, описывающего связь между массой и длиной тела отдельно для самок и самцов, так как они достоверно различаются (табл. 6) (Мазанцева, 1975, 1976).

При определении биомассы термитов необходимо принимать во внимание тот факт, что численность и соотношение каст и возрастных групп в семье сильно колеблется в течение сезона. Поэтому для получения сравнимых результатов важно соблюдать фенологические сроки раскопок. Наиболее подходящим для этого можно считать время выхода семьи из зимовки до начала массовых заготовок корма и строительства наземных галерей. Биомасса семьи в этот отрезок времени принимается за «учетную биомассу». Определяют отдельно численность и средний сухой вес личинок, нимф, солдат, рабочих и готовых к размножению особей и, перемножая эти два показателя, получают биомассу соответствующей группы или касты. Затем, складывая эти величины, получают общую учетную биомассу семьи термитов. Вес крылатых особей при этом в расчет не принимается, поскольку их количество резко колеблется из года в год, а сами крылатые термиты после имагинальной линьки уже не играют функциональной роли в семье (Захаров, 1975).

Таблица 5. Соотношение массы и линейных размеров тела у некоторых представителей почвенной мезофауны

Вид животного	Формула	Пределы веса, мг	Автор, год
<i>Lumbricus rubellus</i>	$W = 0,0036 \cdot l^{2,704}$	6,0—1390,0	Abrahamsen, 1973
<i>Allolobophora caliginosa</i>	$W = 0,0056 \cdot l^{2,071}$	8,0—1520,0	»
<i>Pachyiulus flavipes</i>	$W = 0,028 \cdot l^{2,57}$	19,3—2600,0	Мазанцева, 1975
	$W = 0,2132 \cdot l^{2,07}$	30,7—1191,0	Striganova, Masantseva, 1979
<i>Amblyiulus continentalis</i>	$W = 0,335 \cdot l^{1,77}$	33,5—248,8	»
<i>Sarmatiulus kessleri</i>	$W = 0,0184 \cdot l^{2,73}$	15,1—806,0	Мазанцева, 1977
<i>Schizophyllum caspium</i>	$W = 0,0129 \cdot l^{2,71}$	110,9—707,0	»

Таблица 6. Половые различия в соотношении массы и линейных размеров тела у диплопод

Вид	Общее уравнение	Отдельно для самок	Отдельно для самцов
<i>Pachyiulus flavipes</i>	$W = 0,030 \cdot l^{2,558}$	$W = 0,056 \cdot l^{2,413}$	$W = 0,645 \cdot l^{1,743}$
<i>Sarmatiulus kessleri</i>	$W = 0,0184 \cdot l^{2,7315}$	$W = 0,0162 \cdot l^{2,7717}$	$W = 0,0356 \cdot l^{2,5087}$
<i>Schizophyllum caspium</i>	$W = 0,0129 \cdot l^{2,7118}$	$W = 0,0250 \cdot l^{2,5418}$	$W = 0,2430 \cdot l^{1,8335}$

Оценкой биомассы семьи муравьев служит «условная биомасса семьи», т. е. произведение средней сухой массы одной рабочей особи на численность рабочих в семье. При этом биомасса расплода во внимание не принимается, так как она сильно колеблется в течение года и регулируется самой семьей. Например, у муравьев *Cataglyphis* сырая масса расплода колеблется от 0 зимой до 280% в конце весны от сырой массы рабочих особей. Биомасса рабочих остается более постоянной в течение всего года, хотя и она может уменьшаться вдвое перед массовым выходом из куколок рабочих нового поколения (Длусский, 1975).

Для определения средней массы одной особи достаточно взвесить 40—50 экз. функциональной или возраст-

ной группы с последующим определением взвешенной арифметической средней (Плохинский, 1961).

Микрофауна. Клещи. Отношение между линейными размерами и биомассой у почвообитающих клещей впервые было рассчитано Бэртэ (Berthet, 1967). Оно описывается уравнением

$$\log P = 1,58 \log L + 1,45 \log l - 6,81,$$

где P — сырая масса (в мкг); L — длина от вершины гнатосомы до заднего края идносомы (в мкм); l — ширина тела в самой широкой части.

Лебрен (Lebrun, 1971) отметил, что результаты определения биомассы орибатид с использованием этого уравнения не всегда соответствуют результатам, полученным прямым взвешиванием, поскольку одно и то же уравнение применяется к различным морфотипам. Он предложил уравнения регрессии, учитывающие форму тела орибатид:

1) $\log P = 2,09 \log L + 0,93 \log l - 6,67$ (для архиптероформного типа, тело имеет форму более или менее удлиненного овала);

2) $\log P = 1,62 \log L + 1,40 \log l - 6,56$ (для карабодоформного типа, тело имеет форму четырехугольника);

3) $\log P = 2,09 \log L + 0,84 \log l - 6,44$ (для нотроформного типа, тело имеет форму четырехугольника, лежащего на треугольнике).

Лакстон (Luxton, 1975) опубликовал большую сводную таблицу индивидуальной биомассы большого количества видов орибатид, определенных четырьмя различными методами: прямым взвешиванием, по уравнению связи между размерами и биомассой, по массе родственных видов и по результатам от взвешивания нескольких индивидуумов. Он пришел к выводу, что все же наиболее точным является метод непосредственного взвешивания организмов. Он указал на то, что массу ювенильных возрастов и взрослых клещей нельзя определять по одной формуле, так как живая масса протонимф почти всегда в 2 раза больше массы личинок; масса дейтонимф в 2 раза больше массы протонимф; масса тритонимф в 2 раза больше массы дейтонимф; масса тритонимф очень часто, но не всегда, в 2 раза меньше массы взрослых клещей. Значительное число авторов (Grandjean, 1941; Travé, 1963; Lebrun, 1971; Webb, Elmes, 1972; Elmes, Webb, 1972) отмечали, что у орибатид самки чаще крупнее самцов, причем у некоторых видов

самки вдвое тяжелее самцов (Luxton, 1975). Кроме того, биомассы самок с яйцами или без них значительно различаются (Wood, Lawton, 1973).

Коллемболы. Поскольку взвешивание коллембол представляет значительные трудности, многие авторы искали методы косвенного определения их биомассы (Bogrebusch, 1930; Van der Drift, 1951; Macfadyen, 1952; Kühnelt, 1960; Edwards, 1967; Dungen, 1968). Но эти методы не принимали во внимание различия в биомассе у представителей разных семейств и видов, а также различия в размерной структуре внутри вида. Эдвардс (Edwards, 1967) рассчитал уравнение линейной регрессии между длиной тела и кубическим корнем из живой массы для различных семейств коллембол. Видоспецифичные регрессии между длиной тела и массой тела были установлены Танакой (Tanaka, 1970) для значительного количества японских коллембол. Он описал при помощи линейных функций связь между длиной тела и логарифмом сухой массы.

Хэйл (Hale, 1965, 1966) показал, что размеры головных капсул первых шести стадий развития двух видов коллембол (*Oonychius procampatus* и *O. latus*) равны, как же как и средние массы этих стадий. Построенный график регрессии массы по размеру головной капсулы для этих двух видов он использовал для определения массы различных стадий третьего близкого вида — *O. tricampatus*.

Петерсен (Petersen, 1975) рассчитал уравнения регрессии, связывающие сухую массу и длину тела для целого ряда видов коллембол. Его регрессии основаны на измерениях отдельных особей, разделенных по видам, возрастным группам и полу. Измерения длины проводились с фотографических негативов: живых коллембол фотографировали со вспышкой под микроскопом, негативы проецировали при помощи фотоувеличителя и измеряли по масштабу, идентичному проекции микрометрической шкалы, сфотографированной при таком же увеличении, как и животные. Взвешивание производилось с точностью $\pm 0,05$ мкг, причем для получения более точных результатов масса рассчитывалась как среднее от двух до нескольких повторных взвешиваний одного и того же образца.

Нематоды. Метод определения индивидуальной биомассы нематод был разработан Андраши (Andrassy, 1956) и применяется авторами более современных работ

(Yeates, 1972, 1973). Андраши предложил следующую формулу для определения массы нематод по длине тела:

$$W = (L^2 l) / (16 \cdot 100\,000),$$

где W — масса животного (в мкг); L — максимальная толщина тела (в мкм); l — длина тела (в мкм). За длину тела принимается расстояние от губ до ануса плюс коноидный прирост, равный длине хвоста. Длина тела определяется на препаратах при увеличении в 216 раз, а толщина тела — при увеличении в 840 раз.

Йэтс (Yeates, 1973) определил биомассу 1500 нематод и пришел к выводу, что индивидуальная биомасса почвенных нематод значительно колеблется — от 0,003 до 51,0 мкг как у разных видов, так и у представителей одного вида в течение жизненного цикла.

Энхитреиды. Определять индивидуальную массу энхитреид возможно, используя связь между массой и количеством сегментов тела. Так, Стэндэн (Standen, 1973) на примере *Cognettia sphagnetorum* установил следующую зависимость между этими показателями:

$$\log W = 1,6149 + 0,0209y,$$

где y — количество сегментов тела; W — масса тела.

Среднюю массу одного червя он получал, взвешивая группы животных с одинаковым количеством сегментов на электромикровесах.

Абрахамсен (Abrahamsen, 1973) определяет сырую массу энхитреид, умножая их объем на удельный вес. Для определения объема животных он использует формулу Симпсона с учетом того, что на поперечном разрезе тело энхитреид имеет форму круга:

$$V = \frac{\pi L}{6n} [4(r_1^2 + r_3^2 + \dots + r_{2n-1}^2) + 2(r_2^2 + r_4^2 + \dots + r_{2n}^2)],$$

где V — объем тела; L — длина червя; r_1, \dots, r_{2n-1} — радиусы, измеренные на равных интервалах, n — количество интервалов. Длину и радиусы тела червей измеряют с помощью микрофотографий живых экземпляров. Точность определения объема увеличивается с увеличением количества интервалов измерений радиуса тела. Автор определил, что достаточно высокая точность в определении объема червей достигается при количестве интервалов от 4 до 8. Для того чтобы избежать завышения объема, важно, чтобы покровные стекла не придавливали

Таблица 7. Средний размер и средний объем основных групп простейших (по: Singh, 1946)

Показатель	Жгутиконосцы	Амебы	Инфузории
Средний диаметр, мкм	5	10	20
Средний объем, мкм ³	50	400	3000

червей. Этого избегают, применяя специальные покровные стекла с углублениями.

Простейшие. Биомассу полевой популяции простейших редко можно измерить непосредственно, и она определяется как произведение массы отдельных индивидуумов на их количество. Сырую массу особи определяют по объему клетки, принимая ее удельный вес за единицу.

Для определения объема клеток можно использовать их линейные размеры (Culter, Crump, Sandon, 1922; Kitching, 1936; Volz, 1951; Corbett, 1957; Heal, 1965). Для обездвиживания и уплощения клетки часто используется компрессионная камера. В 1963 г. Рейтер (Reuter, 1963) обнаружил, что наиболее точно объем инфузорий можно определить, помещая их в тонкую, сужающуюся капиллярную трубку; объем клетки при этом рассчитывают по длине животного и величине внешнего диаметра капилляра.

На основании своих и литературных данных Синг (Singh, 1946) подсчитал объем клетки для различных групп простейших (табл. 7).

При определении биомассы простейших (тестацид) необходимо использовать только массу протоплазмы, поскольку раковинка часто бывает пустой; кроме того, раковинка вообще является биологически неактивным образованием.

Хил (Heal, 1965) предложил формулу для определения биомассы цитоплазмы тестацид. Он принял форму цитоплазмы за шар или эллипсоид, удельный вес — за единицу:

$$B = \frac{4/3 a^b c A}{10^9},$$

где B — масса (в мг); a , b , c — радиусы эллипсоида; A — количество организмов.

Таблица 8. Размеры и масса различных почвенных простейших

Группы простейших	Средняя длина или диаметр, мкм	Масса одной клетки, мг	Автор, год
Жгутиконосцы	8,4	$0,1 \cdot 10^{-6}$	Гельцер, 1979
Голые амёбы	15	$1,8 \cdot 10^{-6}$	»
Инфузории	45	$8 \cdot 10^{-6}$	»
Раковинные корненожки	43	$23,3 \cdot 10^{-6}$	Корганова, 1979а

Этот метод находит широкое применение в работах почвенных протозоологов (Schönborn, 1977; Корганова, 1979; Laminger, 1980; и др.).

Советские исследователи (Николюк, Мавлянова, 1976; Гельцер, 1979; Корганова, 1979) используют для определения биомассы различных групп простейших номограммы Л. Л. Численко (1968), составленные для определения приближенной массы планктонных организмов по длине и форме тела, независимо от таксономической принадлежности (табл. 8).

Г. А. Корганова (1979) провела сравнение биомассы раковинных корненожек, рассчитанную разными методами, и пришла к выводу, что, несмотря на существенное различие результатов, использование номограмм Численко возможно, так как этот метод наиболее прост и удобен.

ГЛАВА 2

Методы оценки активности метаболизма почвенных беспозвоночных

Настоящий обзор не ставит целью рассмотрение всех методик и многочисленных приборов, когда-либо предложенных разными исследователями для измерения газообмена воздушнодышащих беспозвоночных. Будут рассмотрены лишь основные методы и те из приборов, которые могут быть более или менее легко воспроизведены. Выбор метода, а часто и конструирование оригинальных приборов определяются размерами и биологическими особенностями объектов исследования, а также целями и возможностями экспериментатора

Определение потребления кислорода

Для определения потребления кислорода почвенными беспозвоночными используются главным образом разнообразные модификации классических объемных методов; применяются приборы, конструкция которых основана на принципах открытой и дифференциальной манометрии (Dixon, 1941; Умбрейт и др., 1951; Кожанчиков, 1961; Klekowski, 1975a). Следует напомнить, что объемные методы измерения потребления кислорода рассчитаны на то, что в процессе участвуют только два газа: потребляемый кислород и выдыхаемый углекислый газ.

Потребление кислорода у одиночных особей или групп особей чаще всего измеряется манометрическим методом по Варбургу, Баркрофту, Драстиху в различных модификациях. Схемы устройства респирометров на основе открытой дифференциальной манометрии представлены на рис. 23 и 24. При открытой манометрии (аппарат Варбурга) система зависит от температуры и атмосферного давления. Контрольные манометры (без животного в респирационном сосудике) позволяют вносить поправку, связанную с изменением температуры и атмосферного давления в период измерения дыхания.

Чаще всего в респирометрии используются фирменные модели аппарата Варбурга. Преимуществом этого прибора является компактность его работающих единиц (манометр с сосудом), благодаря которой можно одновременно использовать 14 или 28 таких комплектов, получая до 25 одновременных измерений. Наличие нормальных шлифов позволяет укомплектовать каждый манометр набором респирационных сосудов разного объема и конструкции. Сосуды могут быть от 1,5 до 200 мл и более, простые и разъемные, как это показано на рис. 23. Емкость для поглотителя CO_2 может быть также расположена различно, а для определения потребления кислорода в присутствии углекислого газа может быть смонтировано двойное дно (для буферного раствора).

При дифференциальной манометрии наличие компенсирующего сосудика делает систему независимой от колебаний температуры и атмосферного давления во время измерений. Это преимущество дифференциальной манометрии успешно используется при конструировании оригинальных приборов. Различные модификации дифференциального респирометра Драстиха, например,

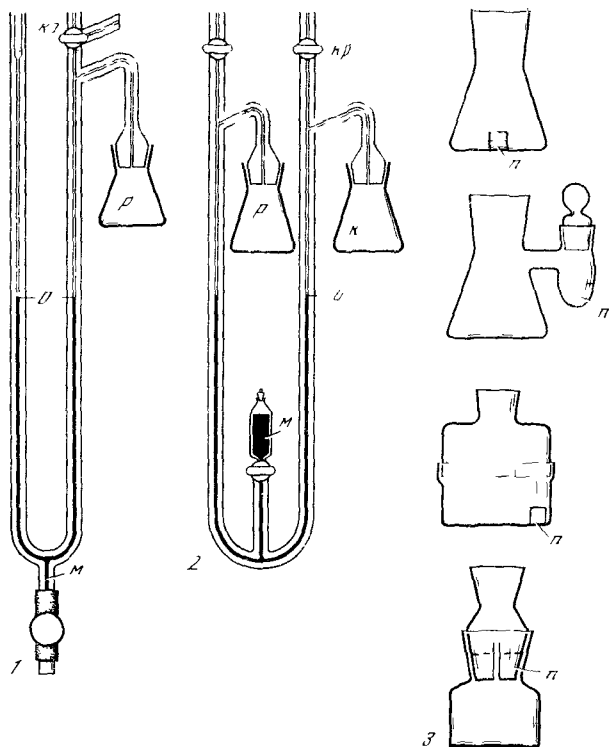


Рис. 23 Схема устройства манометрических respiromетров и типы респираторных сосудов, удобных для работы с воздушнодышащими беспозвоночными

1 — манометр Варбурга, открытая манометрия, 2 — дифференциальный respiromетр Баркрофта (р — респираторный, к — компенсирующий сосуды, м — манометрическая жидкость, 0 — нулевая отметка, кр — кран) 3 — типы респираторных сосудов п — стакачик для поглотителя CO₂ (полоски фильтровальной бумаги опущенной в 5—20% ный раствор щелочи)

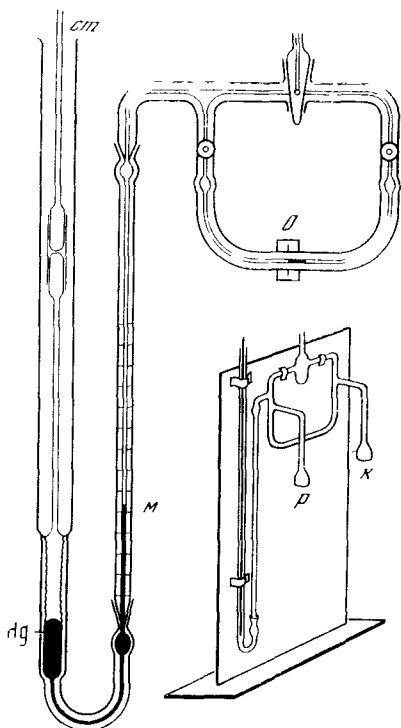
удачны в том отношении, что, являясь нуль-приборами, позволяют регистрировать незначительные изменения объема газа в респираторной камере любого размера. На рис 24 приведена схема устройства дифференциального respiromетра Драстиха в удачной модификации, выполненной и используемой в Институте экологии Польской академии наук (Klekowski, 1975a). В сравнении с более ранней модификацией (Tuft, 1950) удобнее и проще осуществляется регулировка уровня ртути в из-

Рис. 24. Модификация дифференциального респирометра Драстича (Klekowski, 1975a)

- p* — респирационный,
к — компенсирующий сосуды;
и — нулевая точка и капля окрашенного раствора в капилляре соединяющем сосуды;
м — измерительный манометр с ртутью
г — тефлоновый стержень, ввинчивающийся в пистон с ртутью и регулирующий уровень ртути в измерительном манометре

мерительном манометре. Контейнер для поглотителя CO_2 расположен в специальной приставке, пришлифованной между манометром и респирационным сосудом (рис. 23, 3).

Порядок работы с манометрическими приборами состоит в следующем. В стаканчики для поглотителя CO_2 помещают раствор щелочи (5—25%) и полоски фильтровальной бумаги. В респирационный сосудик помещают влажную фильтровальную бумагу и животное. В контрольные или компенсирующие сосуды — только фильтровальную бумагу. Если животное выделяет секрет пахучих желез, необходимо воздух в сосудике сменить, осторожно отсасывая его с помощью груши. Сосудики прикрепляют к манометрам при открытых кранах. Штативы с манометрами укрепляют затем на водяной бане и оставляют для выравнивания температуры и давления при открытых кранах на 15—20 мин. После термостатирования направляют манометрическую жидкость¹ на нулевой точ-



¹ Рецепты манометрической жидкости

1. Жидкость Броди 1 г холинвоокислого или таурохолевого натрия на 100 мл 4,6%-ного раствора NaCl, кристаллик тимола и флюоресцин — до образования яркой окраски жидкости.

2. Безводный NaBr (высушивается при 160°): 44 г на 1 л раствора + 1 мл солеустойчивого детергента, жидкость подкрашивается флюоресцином или краской Evans blue

ке и закрывают краны. Отсчет времени измерения ведется с момента закрытия кранов. При снятии показаний в случае открытой манометрии уровень манометрической жидкости в соединенной с респирационным сосудом ветви манометра устанавливают (при закрытом кране) на нулевой точке и записывают показания открытой ветви манометра. При дифференциальной манометрии в конце периода определения потребления кислорода записывают показания обеих ветвей манометра.

Объем потребленного кислорода (за единицу времени) определяется по формуле $Q = kh$, где k — константа сосуда (цена деления манометра); h в случае открытой манометрии — высота столба манометрической жидкости (мм) над нулевой точкой в открытой ветви манометра, при дифференциальной манометрии (модель Баркрофта) — разность между уровнем жидкости в обеих ветвях манометра.

В случае модификации дифференциального манометра Драстиха (рис. 24), который, как уже говорилось, является нуль-прибором, потребление кислорода рассчитывается по уравнению

$$Q = Q_t \frac{P - P_w}{760} \cdot \frac{273}{t^0 + 273},$$

где Q_t — объем потребленного O_2 при данных условиях опыта; P_w — давление водяных паров раствора NaOH при t^0 ; t^0 , P — условия опыта (температура и атмосферное давление); $\frac{273}{t^0 + 273}$ — температурный коэффициент

($t^0 + 273^0$, или T — температура опыта по шкале Кельвина); Q — потребление O_2 , приведенное к 0^0 и 760 мм рт. ст. Для значений $\frac{273}{t^0 + 273}$ и $C = \frac{P - P_w}{760} \cdot \frac{273}{T}$ мо-

гут быть составлены номограммы (рис. 25).

Методы определения константы сосудов описаны в ряде руководств (Мешкова, Северин, 1950; Кожанчиков, 1961). При работе с объектами разного размера достаточно знать объем газового пространства сосуда и затем рассчитать константу для конкретных условий. Объем газового пространства сосуда определяется по объему (массе) дистиллированной воды, заполняющей сосудик, прикрепленный к манометру, и верхнюю часть трубки манометра до нулевой отметки. Константа рассчитыва-

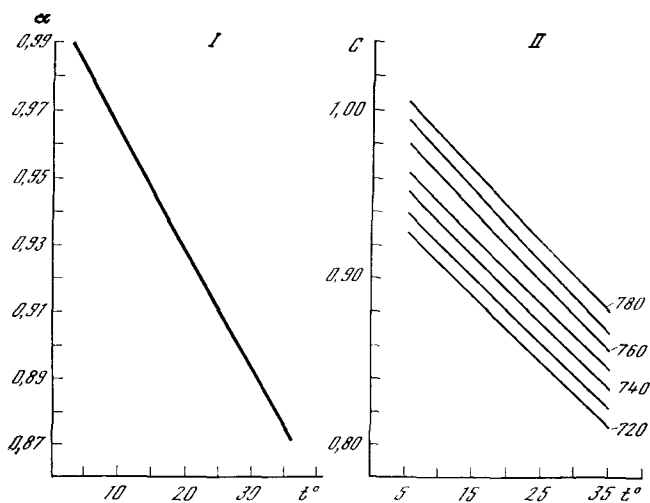


Рис. 25. Номограммы

I — расчет температурного коэффициента $\alpha = 273/(273 + t^\circ)$ для приведения данных эксперимента к 0° ; *II* — расчет коэффициента $C = (P - P_w)/760 \cdot 273/(273 + t^\circ)$ для внесения поправки на давление водяных паров щелочи поглотителя (P_w) и приведения к 0° и 760 мм рт. ст. (P — атмосферное давление во время опыта)

ется по формуле

$$K = \frac{(V_g - V_0) \cdot 273/(273 + t^\circ)}{10\,000},$$

где V_g — объем газового пространства; V_0 — суммарный объем добавок (объем щелочи и животного); t° — температура, при которой проводится измерение. При этом возможно составление номограммы констант для данного объема газового пространства в зависимости от температуры и объема добавок.

Для измерения дыхания простейших, нематод, микроартропод, яиц беспозвоночных применяется поплавковый микрореспирометр, или картезианский поплавок (Holter, 1943; Zeuthen, 1950). В отечественной литературе модель поплавкового респирометра и принцип работы с ним описаны А. П. Щербаковым (1940). Схема прибора и конструкция респираторной камеры — поплавок неоднократно видоизменялись соответственно характеру объектов и целям исследований. В настоящее время наиболее удобной для работы с воздушнодышащими живот-

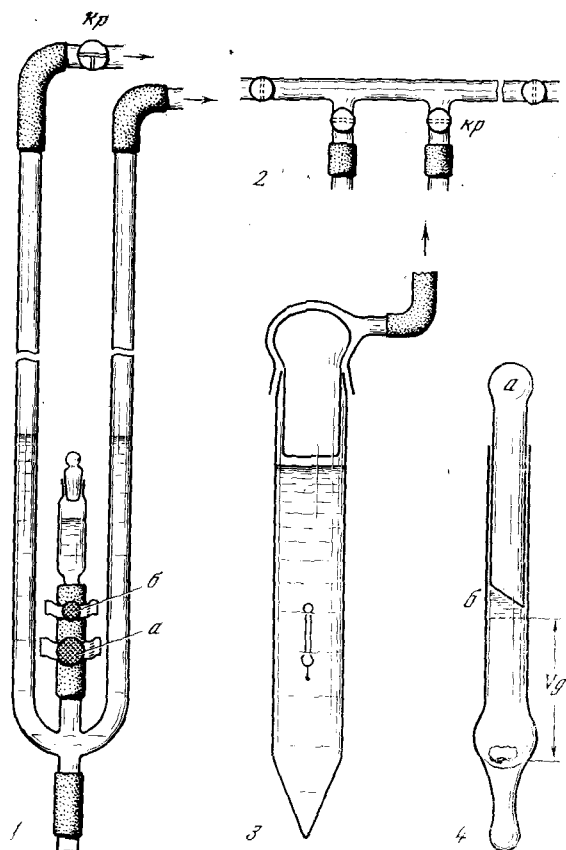


Рис. 26. Схема устройства поплавкового микрореспирометра для работы с воздушнодышащими животными (Klekowsky, 1975b)

1 — манометр с винтами для грубой (а) и тонкой (б) регулировки уровня манометрической жидкости; 2 — распределитель с кранами (кр); 3 — флотационная камера, заполненная 4%-ным раствором NaOH; 4 — поплавок; V_g — газовое пространство, а — полая пробка, б — раствор NaOH

ными является модель закрывающегося поплавка (Klekowski, 1975b). На рис. 26 показаны основные детали конструкции прибора. Один манометр (высотой не менее 150 см) через распределительную систему обслуживает 8—10 флотационных камер. Флотационные камеры закрываются герметически (шлиф, вакуумная смазка) и каучуковыми трубками соединены с распределителем. В качестве флотационной жидкости используется 4—5%-

ный раствор NaOH, который одновременно служит и поглотителем CO₂. Флотационная камера укрепляется в специальном штативе, обеспечивающем ее вертикальное перемещение в водяном термостате. В водяной термостат, кроме флотационных камер, помещен баллон с воздухом объемом до 10 л, соединенный со второй ветвью манометра и служащий в системе компенсационным сосудом. Положение поплавка в камере регистрируется визуально с помощью увеличительной оптики. Объем потребленного кислорода определяется по формуле

$$Q = \frac{V_g P}{P_0} \cdot \frac{273}{273 + t},$$

где V_g — объем газового пространства поплавка; P — изменение давления за период отсчета (в мм вод. ст.), равное разнице показаний обеих ветвей манометра; P_0 — нормальное давление, равное 10 000 мм вод. ст.; t° — температура измерения. Объем газового пространства поплавка определяется по объему (весу) дистиллированной воды, заполняющей поплавок до метки.

Манометрический метод регистрации движения поплавка может быть заменен электромагнитным (Brzin, Zeuthen, 1964; Oman, Brzin, 1972). Схема устройства электромагнитного микрореспирометра приведена на рис. 27. Изменение плавучести дыхательной камерки компенсируется контролируемым изменением магнитного поля, воздействующего на магнитный поплавок. На этой схеме изображен картезианский поплавок, который применяют для работы с водными животными. Для воздушноподышащих беспозвоночных он должен быть соответствующим образом изменен.

Для измерения дыхания мелких объектов, например яиц насекомых, П. Тафт (Tuft, 1950) предложил оригинальный микрореспирометр, который по точности измерения близок к картезианскому поплавку, однако имеет в сравнении с ним преимущества. В основу конструкции респирометра положен принцип дифференциальной манометрии (рис. 28), что делает систему независимой от температуры и атмосферного давления. Объем и устройство дыхательной и компенсирующей камер можно изменять. В оригинальном описании указан объем 50—100 мм³. Камеры соединены капиллярным манометром. Респирометр помещен в водяную баню. При потреблении в респираторной камере кислорода уровень жидкости в манометре смещается по отношению к нулевой отмет-

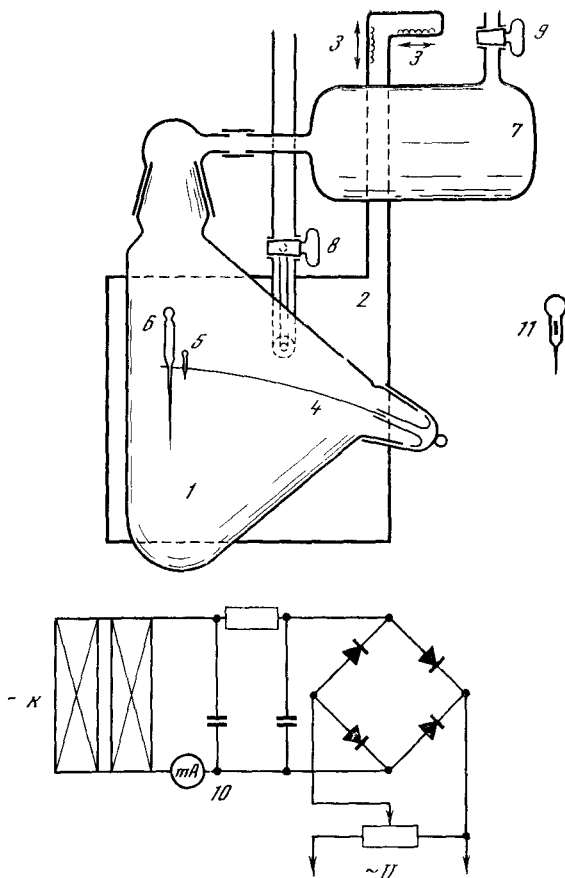


Рис. 27. Схема устройства электромагнитного поплавкового микро-респирометра (Oman, Brzin, 1972)

1 — флотационный сосуд, укрепленный на пластинке из оргстекла (2), 3 — двухходовой манипулятор для перемещения пластички с прибором 4 — кварцевая нить, поддерживающая респирационный и магнитный поплавок 5 — магнитный поплавок, 6 — респирационный поплавок, 7 — сосуд с воздухом, 8 — кран отводка для насыщения флотационной жидкости воздухом, 9 — кран для выравнивания давления воздушной фазы и для присоединения манометра при калибровке прибора; 10 — электрическая схема (K — катушка электромагнита); 11 — магнитный поплавок (магнит в стеклянной или пластиковой ампуле)

ке. С помощью пипетки, заполненной ртутью и соединенной с микрометром, положение жидкости восстанавливают. Объем потребленного кислорода при этом равен показанию микрометра, умноженному на цену одного

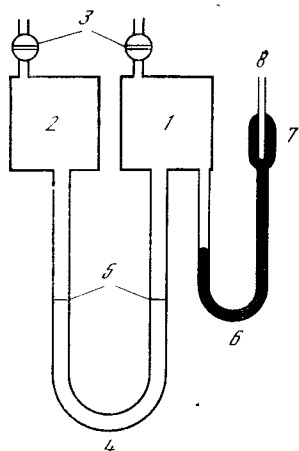


Рис. 28. Схема дифференциального микрореспирометра (Tuft, 1950)

- 1 — респираторная,
- 2 — компенсирующая камеры;
- 3 — краны;
- 4 — манометр с манометрической жидкостью;
- 5 — нулевая отметка;
- 6 — микрошприц с ртутью;
- 7 — резервуар с ртутью;
- 8 — металлический стержень, соединенный с микрометром

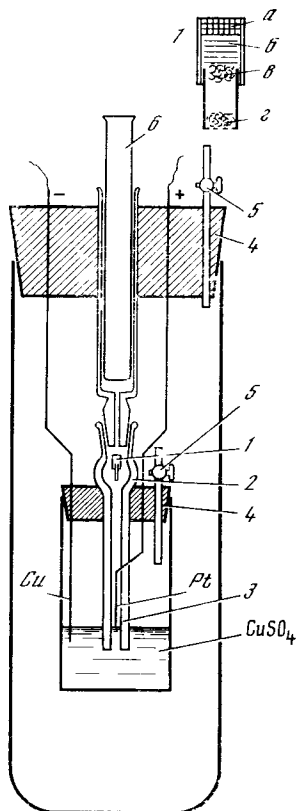


Рис. 29. Схема микрореспирометра с электролитической компенсацией убыли кислорода (Dunkle, Strong, 1972)

- 1 — контейнер для животного: а — стеклянная вата, б — поглотитель CO_2 (комочки натровой извести), в — вата, г — сеточка; 2 — дыхательная камера; 3 — капилляр с внутренним диаметром 2 мм; 4 — резиновые пробки; 5 — краны для выравнивания давления; 6 — шприц; Pt — платиновый электрод; Cu — медный электрод

деления (в единицах объема), которая определяется предварительной калибровкой прибора. Прибор при относительно большом объеме рабочей камеры позволяет улавливать изменение объема газа, равное $0,01 \text{ мм}^3$. Разработана схема автоматического устройства для выравнивания давления и регистрации изменения объема воздуха в дыхательной камере, однако прибор может быть вполне использован и при ручном управлении. От-

носителю большой запас воздуха в камере позволяет проводить длительные измерения без опасения создать в камере дефицит кислорода.

В настоящее время при измерении дыхания воздушно-дышащих беспозвоночных получают все большее распространение приборы с электролитической компенсацией убыли кислорода в дыхательной камере (Winterringham, 1959; Macfadyen, 1961; Бызов и др., 1967; Бызова, 1971; Dunkle, Strong, 1972). Преимущество этого метода перед всеми перечисленными очевидно. Здесь устранен недостаток манометрического метода, состоящий в снижении концентрации кислорода в камере в течение опыта. В респирометрах с кислородным генератором животное в течение всего периода измерения дыхания находится в условиях заданного постоянного напряжения кислорода. Большинство из имеющихся моделей таких респирометров позволяет в принципе проводить длительные измерения. Следует, однако, считаться с мнением о том, что накапливающийся при длительной работе прибора озон может влиять на состояние и поведение животного (Woodland, 1973). В качестве защиты может применяться покрытие внутренней поверхности камеры никель-ди-бутилдитиокарбаматом.

Объем потребленного кислорода в таких приборах определяется в зависимости от их конструкции либо по уравнению электролиза, либо по числу стандартных порций кислорода, выделенных генератором за определенный отрезок времени. Макфедьен подробно рассмотрел все предложенные к тому времени варианты и возможные принципы устройства респирометров с электролитической компенсацией убыли кислорода и показал, что надежность их работы во многом зависит от типа датчика, управляющего электролитической ячейкой. Надежнее в работе те приборы, в которых, как и в последней модели прибора Макфедьена (Macfadyen, 1961), кислородный генератор и управляющий его включением датчик разобщены. Кроме того, можно отметить, что удобнее те приборы, в которых кислород выделяется дозированно. Две такие модели здесь приводятся. На рис. 29 изображены микрореспирометр и управляющая им электрическая схема для измерения потребления кислорода мелкими членистоногими (клещи, ногохвостки, яйца насекомых и т. д.) массой до 10 мкг (Dunkle, Strong, 1972). Животное помещают в стеклянном или пластиковом контейнере в дыхательную камеру. При открытых кранах

прибор приготавливают к работе: закрывают шлифом респирационную камеру и вместе с крышкой вставляют в малый сосуд, после чего кран этого сосуда закрывают. Все вместе вставляют в большой сосуд, помещенный в водяную баню. Кран большого сосуда после периода термостатирования закрывают и проводят измерения.

Компенсация убыли кислорода создает преимущество этого прибора перед поплавковым микрореспирометром. Его преимуществом является также то, что кислород при включении генератора выделяется стандартными порциями. Однако в приборе датчиком служит замыкание цепи $Pt-CuSO_4$, что, как показал Макфедьен, нежелательно из-за поляризации платинового электрода. Кроме того, как и при открытой манометрии, точность измерения зависит от строгости термостатирования. Этот недостаток может быть устранен, если респирационную камеру переконструировать по типу компенсирующих сосудов. Еще один недостаток прибора, а именно сложная система герметизации, может быть легко устранена заменой, например, резиновых пробок пришлифованными крышками.

Как уже говорилось, использование принципа дифференциальной манометрии может практически снять проблему строгого термостатирования. В этом случае достаточным оказывается грубое термостатирование с точностью в пределах одного градуса, т. е. только такое, которое исключает биологическое влияние изменений температуры на газообмен. На этом принципе основана конструкция респирометра с электролитической компенсацией убыли кислорода для измерения дыхания различных наземных и почвенных беспозвоночных (Бызов и др., 1967; Бызова, 1971). На рис. 30 приведено автоматическое и ручное устройства респирометра и электрических схем управления. Точность измерения не зависит от атмосферного давления, так как использована схема компенсирующих сосудов, а также и от температуры, поскольку дыхательная и компенсирующая камеры выточены в одном медном или латунном блоке, выравнивающим в них температуру. Респирометр помещается в теплоизолирующую оболочку (при работе с комнатной температурой) или в специальный воздушно-водный термостат с циркулирующей в двойной стенке водой. Через кислородный генератор пропускаются импульсы тока стандартной длительности, благодаря чему кислород вырабатывается стандартными порциями. Объем порции

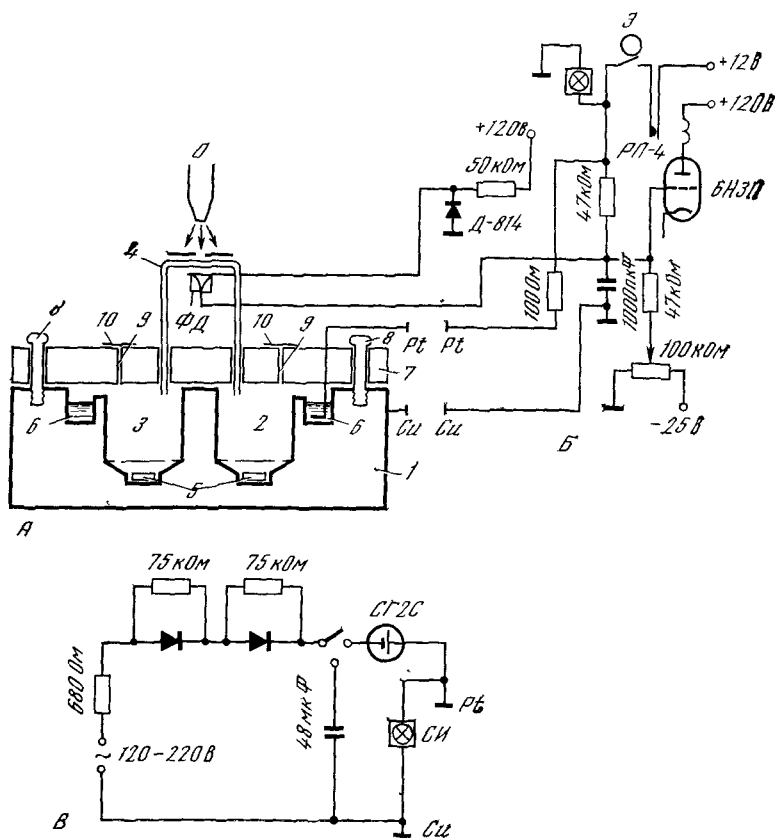


Рис. 30. Устройство дифференциального респирометра с электролитической компенсацией убыли кислорода (А) и электрические схемы управления кислородным генератором: Б — автоматическая, В — ручная (Бызов и др., 1967; Бызова, 1971)

1 — медный или латунный блок; 2 — рабочая, 3 — компенсационная камеры; 4 — капиллярный манометр с каплей легкоподвижной жидкости; 5 — сосуды для поглотителя CO_2 ; 6 — кислородный генератор с раствором CuSO_4 и платиновым электродом; 7 — крышка из оргстекла; 8 — винты, прикрепляющие крышку к блоку, поверхность которого смазана вакуумной смазкой; 9 — капиллярные ходы для выравнивания давления; 10 — покровные стекла, закрывающие капиллярные ходы; 0 — осветитель. Обозначения в электрических схемах ФД — фотодиод ФД-3; Э — эксцентрик на оси синхронного мотора, СИ — счетчик включения кислородного генератора

кислорода может быть рассчитан по уравнению электролиза, а также определен объемным методом. Для этого в капиллярный ход рабочей камеры герметически закрепляется микропипетка, соединенная со шприцем с микроподачей и заполненная дистиллированной водой. Оттягивание воды в микропипетке имитирует снижение давления в рабочей камере, которое происходит при потреблении кислорода. Оно компенсируется работой кислородного генератора. Таким образом несколько раз определяется объем кислорода, выделившегося при 50—100 включениях электролитической ячейки, и рассчитывается объем единовременной порции кислорода. В сочетании с ручной схемой управления генератором прибор может работать при разном напряжении в сети. Для этого электролитическая ячейка должна быть откалибрована при разных напряжениях. В данной схеме объем порции кислорода при 120 В составляет 0,24 мм³, при 190 В — 0,45 мм³. Использование в качестве источников питания анодных батарей большой емкости или аккумуляторов позволяет использовать прибор в полевых условиях. Подготовка прибора к работе состоит в следующем. Электролитические ячейки в рабочей и компенсирующей камерах заполняются равным количеством насыщенного раствора медного купороса. В тефлоновые стаканчики на дне камер наливают раствор щелочи. На второе дно из оргстекла кладут кусочки влажной фильтровальной бумаги, затем в рабочую камеру помещают животное. При открытых капиллярных ходах крышка привинчивается к блоку, поверхность которого смазана вакуумной смазкой. Прибор термостатируется 5—10 мин. Капля жидкости в капилляр-манометре устанавливается у средней метки. Это можно сделать, слегка надавливая поочередно на капиллярные ходы крышки. Затем оба хода одновременно закрываются скользящими на вакуумной смазке покровными стеклами. С этого момента ведется отсчет времени измерения потребления кислорода. Объем потребленного кислорода равен объему единовременной порции кислорода, умноженной на количество включений генератора за определенный период времени.

Во всех перечисленных методах и приборах измерение потребления кислорода, как уже говорилось, возможно лишь при полном удалении углекислого газа из дыхательной камеры. При этом животные при измерении скорости дыхания находятся в неестественных условиях. Особенно это касается почвенных беспозвоночных, для

которых содержание 0,3% CO_2 в почвенном воздухе — обычные условия существования, а концентрация CO_2 в почве может колебаться в пределах одного-двух порядков величин (Бызова, 1968).

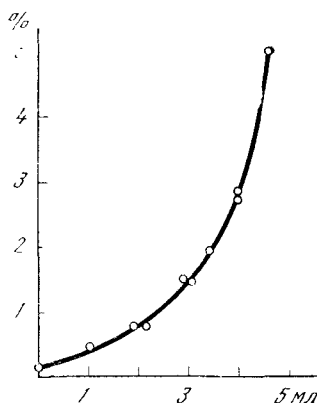
Использование буферных растворов в качестве поглотителя CO_2 (Warburg, 1919; Pardée, 1949; Krebs, 1951) позволяет поддерживать в дыхательной камере некоторую заданную концентрацию углекислого газа. Для создания в камере небольшого напряжения CO_2 — от 0,03 до 0,86% — Варбург предложил буферный раствор, состоящий из смеси равных количеств карбоната и бикарбоната натрия или калия соответствующих концентраций (в м/л) (Warburg, 1919):

Na_2CO_3	NaHCO_3	Концентрация CO_2 в воздухе, %
0,050	0,050	0,0258
0,032	0,065	0,0611
0,025	0,075	0,1120
0,045	0,085	0,2350
0,040	0,090	0,3900
0,005	0,095	0,8650

Более высокую концентрацию CO_2 в рабочей камере — до 3—4% — можно создавать, используя в качестве буфера диэтаноламин в чистом виде или в смеси с другими веществами (Pardée, 1949; Krebs, 1951). Чистый диэтаноламин сам поглощает кислород, поэтому требуются добавки, подавляющие процесс окисления. Для этой цели применяется 0,1%-ный раствор тиомочевины. Одна из таких буферных смесей имеет следующий состав: 10 мл 60%-ного раствора диэтанолamina, 3 г KHCO_3 , 6ННСI в количестве, необходимом для создания той или иной концентрации CO_2 (см. график на рис. 31). Объем смеси доводят дистиллированной водой до 15 мл. Затем 0,6 мл этой буферной смеси наливают в емкость для поглотителя CO_2 с фильтровальной бумагой.

Изучение влияния более высоких концентраций CO_2 на дыхание почвенных беспозвоночных возможно с помощью газовой хроматографии, инфракрасного и других газовых анализаторов. Однако эти методы требуют специальной сложной аппаратуры. В сравнении с ними кажется более простым метод полярографии в газовых смесях, который стал возможен после создания мембранных электродов (Sawyer, George, Rhodes, 1959), хотя и не нашел пока широкого применения в изучении дыхания воздушнодышащих беспозвоночных. Метод основан

Рис. 31. Концентрация CO_2 (в %) в воздушной фазе респираторного сосуда в зависимости от концентрации раствора (6NHCl) в центральном стаканчике (Pardee, 1949)



на измерении сопротивления платинового электрода в электролите, отделенном от газового пространства мембраной, проницаемой для кислорода (подробно см.: Исаакян, 1964). При напряжении 0,6 В на платиновом электроде величина тока, зависящего от сопротивления

контакта платина — электролит, пропорциональна концентрации кислорода в газовой смеси дыхательной камеры.

Применение в качестве электролита агарового мостика — раствора электролита, приготовленного на агаре, дает возможность обходиться без мембраны. На рис. 32 приведена схема лабораторной полярографической установки для определения потребления кислорода почвенными беспозвоночными в присутствии CO_2 (Бызова, Бызов, 1973). Электролитическую ячейку в этой установке составляют каломельный и платиновый электроды, а электролитом служит 20%-ный раствор хлористого калия, приготовленный на агаре (агаровый мостик). Описание устройства каломельного электрода приведено в руководстве Н. П. Мешковой, С. Е. Северина (1950). Платиновый электрод представляет собой одетую в изоляцию платиновую проволоку диаметром 0,4 мм. Проволока закреплена в прямоугольно изогнутой трубке, один конец которой воронкообразно расширен, а другой имеет на наружной поверхности шлиф. Трубка заполняется горячим раствором хлористого калия-агара до расширенной части.

После затверждения агарового мостика расширенная часть трубки заполняется раствором хлористого калия. Выступающий на 3—4 мм оголенный конец платиновой проволоки в неглубоком желобке из тефлона также заливают агаровым раствором электролита. Трубка с помощью шлифа соединяется с измерительной камерой объемом около 1 см³, куда набирают пробу газовой смеси для анализа.

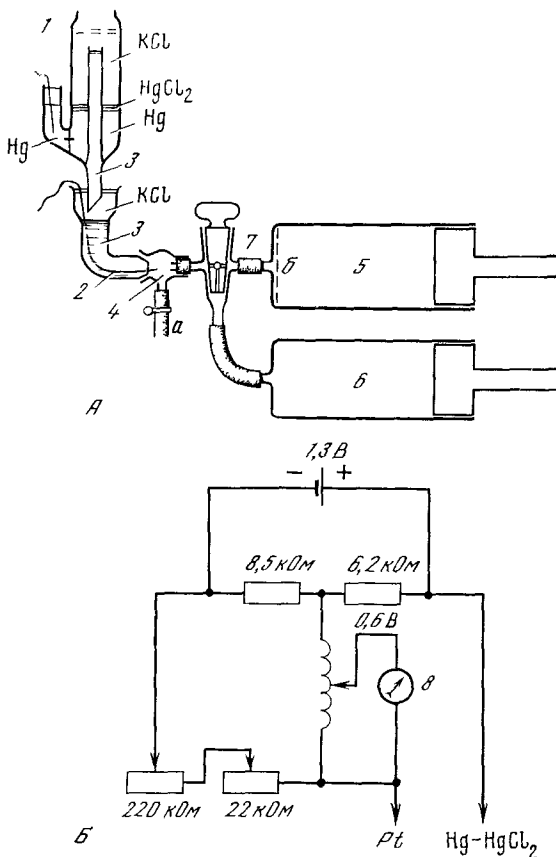


Рис. 32. Схема полярографической установки для определения потребления кислорода почвенными беспозвоночными (Бызова, Бызов, 1973)

4 — электролитическая ячейка и респирометр 1 — каломельный электрод; 2 — платиновый электрод, 3 — агаровые мостики, 4 — измерительная камера с отводком для смены газа (а) 5 — дыхательная камера с сеткой (б), 6 — шприц с контрольной газовой смесью 7 — трехходовый кран Б — электрическая схема 8 — измерительный прибор (милливольтамперметр М 95)

В отличие от электрических схем, рекомендуемых для лабораторных полярографических установок (Исаакян, 1964), в данном случае применена мостовая схема, которая позволяет освободиться от постоянной составляющей электрического тока и, таким образом, использовать наибольшую чувствительность измерительного прибора.

Измерительным прибором в этой схеме служит милливольтамперметр М-95 с чувствительностью $1 \cdot 10^{-9}$ А. Измерения концентрации O_2 в дыхательной камере производится одновременно в конце опыта. Это исключает влияние на результаты измерения дрейфа нулевой линии, который неизбежен при высокой чувствительности установки.

Дыхательной камерой служит шприц, заполненный газовой смесью и соединенный с измерительной камерой через трехходовой кран. Через этот же кран с измерительной камерой соединяется шприц с контрольной газовой смесью для калибровки электрода. В рабочем состоянии электрод находится в равновесии с контрольной смесью¹.

Газовые смеси получают разбавлением воздуха в шприцах чистым азотом или углекислым газом в определенных пропорциях. Точность измерения с помощью такой установки не зависит от колебаний температуры, поэтому термостатирование необходимо лишь в той мере, в какой этого требует задача исследования.

Для изучения газообмена в присутствии CO_2 у почвенных животных, способных дышать в воде, могут быть использованы электролитические ячейки с закрытыми электродами (Камлюк, 1967; O'Connor, 1967), полярографическая ячейка, предложенная для измерения дыхания нематод (Marks, Sørensen, 1971).

Определению кислорода объемными методами могут мешать различные летучие вещества, выделяемые животными. В литературе накопилось много данных о том, что почвенные животные выделяют, кроме секрета пахучих желез, аммиак, амины и др., которые не поглощаются щелочью, оставаясь в воздухе дыхательной камеры, и маскируют истинную скорость газообмена. Например, нематоды, моллюски, дождевые черви, мокрицы, многоножки и, возможно, ногохвостки выделяют аммиак, количество которого возрастает при голодании. Во всех этих случаях при изучении газообмена манометрическими методами в дыхательную камеру следует помещать специальный поглотитель летучих выделений, например красный лакмус против аммиака. В тех случаях, когда природа летучего вещества, а следовательно, и поглотитель неизвестны или поглотитель сам может испаряться,

¹ При калибровке прибора шприцы заполняются газовыми смесями с возрастающей концентрацией CO_2 .

объемные методы неприменимы. Здесь могут использоваться лишь методы, которые основаны на анализе газового состава воздуха в дыхательной камере: газовый анализатор Сколендера (Scholander, 1942), приборы с использованием газовых анализаторов (Hamilton, 1959; Bolton, 1970), газовая хроматография (Wood, Wood, Dickinson, 1970; Куузик, 1976), полярографические установки.

Определение выдыхаемого углекислого газа

Количество выдыхаемой углекислоты часто определяется непрямым методом по Варбургу (Dixon, 1943; Кожанчиков, 1961). Согласно этому методу в аппарате Варбурга проводят последовательно два определения: одно — с поглотителем CO_2 , характеризующее потребление кислорода животным, второе — без поглотителя CO_2 , которое рассматривается как разница между объемом поглощенного кислорода и выделенного за время измерения углекислого газа. Применение непрямого метода определения дыхательного коэффициента возможно, как уже говорилось, в тех случаях, когда есть уверенность, что никакие летучие вещества животным не выделяются. Иначе при расчетах потребление кислорода окажется заниженным, а выделение углекислого газа (сюда будет включен и неизвестный газ) — завышенным, что приведет к искажению величины дыхательного коэффициента.

Более правильными сейчас следует считать, особенно для почвенных животных, прямые методы измерения количества выдыхаемого углекислого газа.

Количество CO_2 может быть определено уже упомянутыми методами: с помощью газовой хроматографии (Wood, Wood, Dickinson, 1970; Mitchell, 1973; Куузик, 1976), инфракрасного газового анализатора (Hamilton, 1959; Bolton, 1970; Neal, Jones, 1972). С помощью последнего Болтон успешно изучил изменения дыхательного коэффициента у дождевых червей в течение года. Измерения проводили в токе воздуха, лишённого CO_2 . Нил и Джонс (Neal, Jones, 1972) использовали в качестве респирационной камеры сосудик от прибора Варбурга, который пришлифовывался к специальному устройству, соединяющему его с инфракрасным газоанализатором. При этом содержание CO_2 определяли с помощью газоанализатора, а O_2 — полярографически.

Продукция углекислого газа может быть определена с помощью кондуктометрии. Кондуктометрия основа-

на на измерении сопротивления (или электропроводности — величины, обратной сопротивлению) раствора щелочи — поглотителя CO_2 , которое меняется по мере изменения концентрации раствора в результате поглощения им углекислого газа¹. На рис. 33 приведена схема прибора для одновременного определения потребления кислорода методом дифференциальной манометрии и выделения углекислого газа — кондуктометрически (Fenn, 1927; Lindsay, 1939). В качестве поглотителя CO_2 использован раствор $\text{Ba}(\text{OH})_2$, поскольку углекислый барий практически нерастворим и уходит в осадок. Воздух в дыхательной камере циркулирует со скоростью 6 см/мин, проходя через раствор щелочи. Циркуляция создается с помощью специального электронасоса. Изменение объема воздуха в дыхательной камере, обусловленное потреблением кислорода, регистрируется по перемещению капли жидкости в манометре, который соединяет рабочую и компенсирующую камеры и откалиброван. Расчет потребленного кислорода производится по формуле

$$Q = \frac{\Delta V (V_r + V_c)}{V_c + \Delta V} + \Delta V \frac{P_w (V_r - \Delta V)}{P_a (V_c + \Delta V)},$$

где V_r — исходный объем газового пространства в дыхательной камере за вычетом объема животного и щелочи; V_c — объем газа в компенсирующей камере; P_w — парциальное давление паров воды в воздухе при температуре измерения (над разбавленной $\text{Ba}(\text{OH})_2$ воздух насыщен паром); P_a — парциальное давление сухого воздуха при данной температуре; ΔV — изменение объема воздушной фазы за определенный отрезок времени. Сопротивление раствора определяли с помощью мостовой схемы, откалиброванной относительно стандартных сопротивлений. Точность измерения составляла $2 \cdot 10^{-6}$ Ом. Использовались платинированные электроды. Кондуктометрическая ячейка характеризуется константой, т. е. величиной, показывающей, какую часть удельного сопротивления раствора измеряет данная пара электродов. При расчетах применяются уравнения

$$K = R\lambda; \quad \lambda = K/R,$$

где K — константа электродов; R — сопротивление рас-

¹ Кондуктометрически может быть определен также аммиак (Shaw, Staddon, 1958)

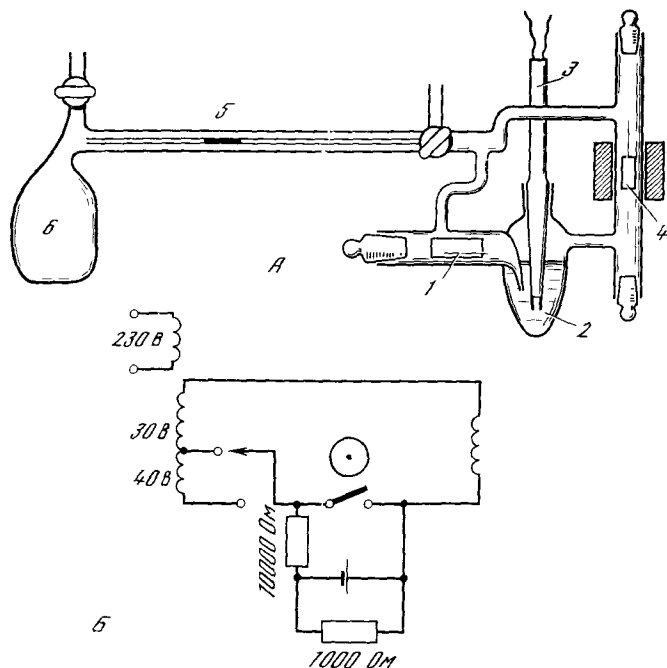


Рис. 33. Схема прибора для одновременного определения потребления кислорода и выделения CO_2 (Lindsay, 1939)

А: 1 — контейнер для животного, 2 — кондуктометрическая ячейка с раствором $\text{Ba}(\text{OH})_2$, 3 — платинированные электроды; 4 — насос; 5 — капиллярный манометр с каплей подвижной жидкости; 6 — компенсирующая камера. Б: электрическая схема насоса

твора; λ — удельная электропроводность раствора. Константу определяют с помощью раствора точно известной удельной электропроводности. Для этого измеряют с помощью данных электродов сопротивление стандартного раствора и умножают полученную величину на удельную электропроводность этого раствора при температуре измерения. Константа зависит только от свойств электродов, поэтому время от времени ее следует проверять. Ниже приведены значения удельной электропроводности раствора KCl , которыми пользуются при определении константы электродов.

Удельная электропроводность 0,02 N KCl (в Ом·см⁻¹·10⁻³)

<i>t</i> ^o	λ	<i>t</i> ^o	λ
16	2,294	21	2,553
17	2,345	22	2,606
18	2,397	23	2,659
19	2,449	24	2,712
20	2,501	25	2,765

В опыте измеряют исходное сопротивление Ва(ОН)₂, а затем его изменения через определенные отрезки времени. При этом удельная электропроводность раствора будет равна константе электродной ячейки, деленной на измененное сопротивление раствора. По удельной электропроводности определяют концентрацию раствора и ее изменения в течение опыта. По этим изменениям судят о количестве углекислого газа, вступившего в реакцию с данным количеством щелочи. Исходными данными для расчетов служат значения удельной электропроводности раствора (в Ом·см⁻¹·10⁻³) Ва(ОН)₂ в зависимости от его концентрации и температуры, приведенные ниже (по: Landolt-Börnstein, 1960):

Нормальность раствора	18°	25°
0,0005	219	251
0,002	215	
0,01	207	235
0,05	191	215
0,1	180	204

Для расчетов можно также использовать номограммы (рис. 34).

Из уравнения реакции Ва(ОН)₂ + СО₂ = ВаСО₃ + Н₂О следует, что для изменения концентрации 1 мл раствора Ва(ОН)₂ на 0,01 необходимо 112 мм³ СО₂ (при 0° и 760 мм рт. ст.).

Для определения количества выдыхаемой углекислоты была использована также установка, действие которой основано на измерении теплопроводности воздуха, которая меняется по мере накопления в нем СО₂ (Edwards, 1970). В качестве датчика использован термисторный детектор теплопроводности. На рис. 35 приведена схема устройства респирометра и измерительной ячейки этой установки. С помощью этого прибора, соединенного с пищущим устройством, регистрировали и измеряли прерывистое выделение СО₂ у диапаузирующих куколок бабочек.

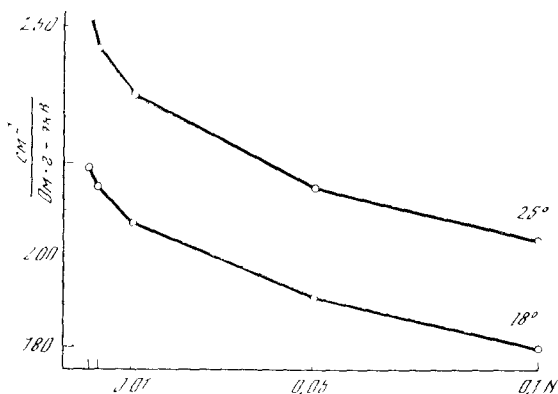


Рис. 34. Номограммы для определения концентрации раствора $\text{Ba}(\text{OH})_2$ по электропроводности

По оси ординат — эквивалентная электропроводность; по оси абсцисс — концентрация раствора $\text{Ba}(\text{OH})_2$.

Сравнительно простой метод определения количества выделяемой при дыхании углекислоты — титрование щелочи-поглотителя (Dixon, 1943). Для проведения таких определений удобна модификация сосуда Варбурга, схема которой приведена на рис. 36 (Vyzova, 1967). В боковой отросток наливают раствор $\text{Ba}(\text{OH})_2$. Боковой отросток закрывается пришлифованной пипеткой с краном. Резервуар пипетки заполнен раствором соляной кислоты. Пипетка заполняется с помощью резинового баллончика таким образом, чтобы давление в баллончике было равно атмосферному, а кислота заполняла бы только резервуар пипетки. После этого кран пипетки закрывают и пипетку взвешивают для определения количества кислоты в ней. Потребление кислорода определяется обычным путем. После отсчета часть раствора соляной кислоты выдавливается из пипетки в щелочь. Для этого при слегка сдавленном баллончике открывают кран, и после того, как кислота выливается, не отпуская баллончика, кран снова закрывают. Штативы с манометрами в течение минуты качают, затем отмечают показание манометра. Количество выделившейся углекислоты определяют по формуле

$$Q_{\text{CO}_2} = Kh - V_1 - V_2,$$

где K — константа сосуда; h — показание манометра;

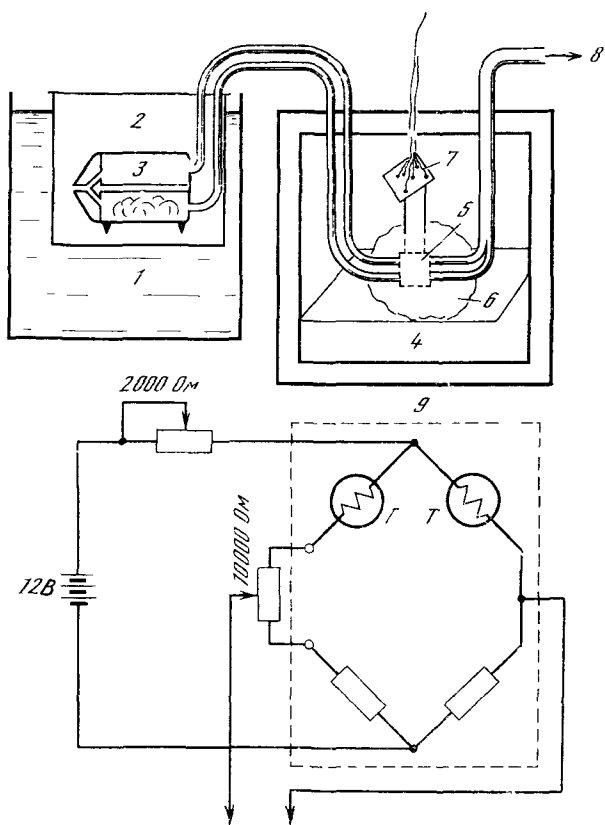
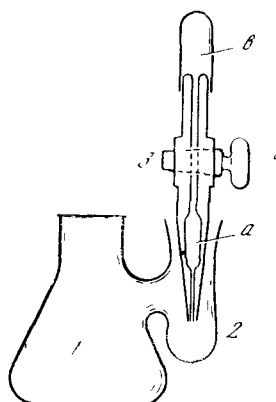


Рис. 35. Прибор для определения выдыхаемой углекислоты (Гdwards, 1970)

— водяная баня, 2 — контейнер для респираторной камеры; 3 — респираторная камера, 4 — термостат, 5 — термисторный детектор теплопроводности, 6 — вата, 7 — один детектор, 8 — насос, 9 — электрическая схема детектора. Пунктирным квадратом отмечен детектор.

Рис. 36. Сосуд для определения выдыхаемой углекислоты титрованием

— камера для животного, 2 — боковой резервуар для раствора $\text{Ba}(\text{OH})_2$, 3 — пробка, 4 — резервуар для раствора HCl , 5 — резиновый баллончик.



V_1 — объем добавленной соляной кислоты; V_2 — объем кислорода, потребленного за время определения углекислоты. Объем добавленной соляной кислоты определяется по ее удельному весу и весу введенного в сосуд количества (вес заполненной пипетки минус вес пипетки после измерения).

Условия измерения газообмена

Выбор метода и аппаратуры, как уже говорилось, определяется особенностями объекта и задачей исследования. Газообмен — величина переменная, зависящая от многих факторов. У отдельной особи он зависит от температуры окружающей среды, от возраста или физиологического состояния, изменяется по мере роста, в некоторых случаях отмечены различия, связанные с полом. Сравнения особей в пределах вида, видов, а также и более высоких систематических категорий, кроме весовых различий, выявляют разнообразие реакции на температуру окружающей среды. Есть и другие, более частные или специфические факторы, обуславливающие интенсивность процессов газообмена. При планировании измерений газообмена все обстоятельства должны быть строго учтены.

Само собой разумеется, что влияние отдельного фактора на газообмен должно изучаться при прочих постоянных условиях.

Следует напомнить, что принято различать три типа дыхательного обмена. «Основным обменом», или обменом покоя», называют обмен совершенно неподвижного (или искусственно обездвиженного с помощью наркотизирующих средств) животного. Термином «активный обмен» обозначают обмен при непрерывном движении. «Стандартный обмен» — это обмен животного, находящегося в малоподвижном состоянии, но не подверженного искусственному снижению его активности. Количественно эти типы обмена значительно различаются, поэтому условия измерений должны быть всегда четко указаны. Чаще всего в литературе приводятся данные о стандартном обмене. У почвенных беспозвоночных стандартный обмен, по-видимому, очень близок к основному. Скрытый образ жизни и тенелюбивость в естественных условиях определяют их спокойное поведение в респирометре, если в него помещены в качестве «укрытия» кусочки влажной фильтровальной бумаги

Основные условия, которые должны быть соблюдены при измерении газообмена почвенных беспозвоночных, состоят в следующем:

1. Животные, собранные в природе, должны быть помещены до измерения в обстановку, по возможности близкую к естественной (субстрат, запас пищи, температура, влажность субстрата, освещенность, плотность поселения).

2. Соблюдение температурных условий требует особого внимания. Газообмен очень чувствителен к температуре окружающей среды. Исследования зависимости газообмена от температуры должны включать:

а) измерения скорости дыхания при разных значениях температуры в диапазоне, характерном для местообитания, при полной акклимации к каждому из значений температуры. Смена температуры акклимации должна следовать естественному ходу теплового режима местообитания;

б) изучение реакции на смену температуры от исходной постоянной в обоих направлениях и скорости температурной акклимации обмена;

в) характеристики скорости дыхания в условиях естественной суточной смены температуры в разные сезоны.

3. Длительное лишение пищи значительно снижает интенсивность потребления кислорода. В тех случаях, когда нас интересует естественный уровень газообмена, его следует измерять у питавшихся беспозвоночных и вносить затем поправку к массе на содержимое кишечника. В большинстве случаев эта поправка незначительна. При голодании, кроме того, у некоторых беспозвоночных выделяется аммиак, мешающий манометрическому измерению газообмена.

4. Почвенные беспозвоночные тенелюбивы: при измерениях следует избегать действия на них прямого света.

Материал должен быть достаточно представительным для статистической обработки результатов измерений.

Обозначения и методы расчетов

Во всех перечисленных методах непосредственно измеряемой величиной является количество кислорода, потребленного особью за определенный отрезок времени, или количество выделенного углекислого газа. Количество потребленного кислорода (скорость дыхания) являет-

ся показателем общих энергетических затрат на обмен и обычно обозначается символом Q (Q_{O_2} , Q_{CO_2}) или R (respiration — дыхание).

На основании величины $Q(R)$ рассчитывается интенсивность дыхания: Q/W — количество кислорода, потребленное за единицу времени в расчете на единицу массы. Величина Q может быть выражена в объеме (массе) потребленного кислорода (приведенном к 760 мм рт. ст. и 0°) или в энергетических единицах — калориях, джоулях. Оксикалорийный коэффициент в отечественной литературе принимается равным 4,86 (1 мл $O_2 = 4,86$ калорий)¹ (Винберг, 1962). W — масса особи. При расчетах может быть использована сырая или сухая масса, а также эквивалентные значения азота, углерода, белков, беззольное сухое или сырое вещество. При расчетах интенсивности дыхания скорость дыхания Q относят соответственно к единице массы сырого или сухого вещества, к содержанию общего азота, органического (беззольного) азота, к содержанию углерода или белков.

В физиологических исследованиях для характеристики типа обмена и некоторых других целей пользуются значением дыхательного коэффициента RQ (respiratory quotient), определяемого как отношение выделенного за единицу времени углекислого газа к потребленному за то же время кислороду: $RQ = Q_{CO_2}/Q_{O_2}$.

При изучении зависимости газообмена от температуры для ее первоначальной количественной оценки пользуются значениями температурного коэффициента Q_{10} , который определяется из отношения

$$Q_{10} = \frac{Q_{t+10^\circ}}{Q_t},$$

где Q_t — потребление кислорода при температуре t° ; Q_{t+10° — потребление кислорода при температуре $t+10^\circ$. Более существенный анализ требует специальных методов. В настоящее время показано на большом материале по водным беспозвоночным, что зависимость скорости дыхания от температуры передается уравнением Аррениуса: $Q = Q_0 e^{-\frac{\mu}{RT}}$ (Ивлева, 1981). Приемы расчетов — определение показателя энергии активации μ — описаны в литературе.

¹ 1 калория — 0,206 мл O_2 ; 4,18 Дж.

Однако, по-видимому, не следует забывать также и того давнего высказывания физиолога Д. Баркрофта (1934), одобренного и аргументированного биохимиками Хочачкой и Сомеро (1977), о том, что «природа научилась... избегать тирании единообразных следствий уравнений Аррениуса. Она может манипулировать жизненными процессами так, что сама управляет химической ситуацией, вместо того, чтобы подчиняться ей».

Для крупномасштабных сопоставлений и целей, очевидно, неизбежна и оправдана универсальная аппроксимация зависимости $Q-t^\circ$ уравнением Аррениуса. Однако представляется еще более интересным исследование «обходов» и отклонений, о которых писал Баркрофт. В конкретных исследованиях, вероятно, правомерны примитивные сопоставления (например, через Q_{10}) корректно полученных данных. Следует еще раз подчеркнуть, что гораздо важнее корректность первичных данных, чем способ последующего их статистического анализа.

Зависимость между скоростью дыхания и массой тела чаще всего выражают уравнением $Q = AW^k$, где Q и W — непосредственно измеряемые величины. Методы расчета и статистической оценки параметров уравнения A и k подробно обсуждаются А. А. Умновым (1976). A и k находят методом наименьших квадратов, используя для расчетов логарифмы величин Q и W (Умнов, 1976) или их непрелобразованные значения (Мешкова и др., 1983).

ГЛАВА 3

Методы исследования питания почвенных беспозвоночных и оценки их роли в трансформации растительных остатков

В комплексах почвообитающих беспозвоночных природных ландшафтов основная масса животных связана с разлагающимися растительными остатками. В процессе питания животные размельчают растительные остатки. Их обломки, а также непереваренные остатки, выброшенные в почву с экскрементами, смешиваются с минеральной массой и включаются в детритный поток, в котором развиваются биогенные процессы минерализации и вторичного ресинтеза органического вещества (гуми-

фикация). В сапрофильном комплексе почвенных животных выделяются группировки сапрофитофагов, микрофитофагов, детритофагов, различающихся по характеру пищевой специализации (Стриганова, 1980).

Среди беспозвоночных, питающихся корнями, основное значение в комплексах животного населения имеют личинки насекомых — ризофаги (представители семейств *Chrysomelidae*, *Elateridae*, *Tenebrionidae*, *Alleculidae*, *Curculionidae*, *Tipulidae*, *Noctuidae*) и свободноживущие растительоядные нематоды, сосущие соки корневых тканей (паразитобионты, фитопаразиты).

Трофическая группировка хищников включает представителей разных систематических групп. За немногими исключениями, это — полифаги, использующие широкий спектр жертв. Среди них имеются неспециализированные формы, поедающие свои жертвы целиком. У специализированных хищников с колюще-сосущим ротовым аппаратом распространено внекишечное пищеварение: они способны принимать лишь жидкую пищу.

Почвенные беспозвоночные отличаются большим разнообразием морфо-функциональных особенностей ротового аппарата. У них представлены практически все типы питания, ранее выделенные для водных животных (Yonge, 1928). Наконец, большие размерные различия почвенных беспозвоночных также затрудняют разработку стандартных методов определения их пищевых рационов и спектра пищевых связей.

Ниже дается обзор наиболее распространенных в настоящее время подходов и методов определения пищевых спектров и пищевых предпочтений почвенных беспозвоночных, а также количественных методов определения их суточных рационов и усвояемости пищи. Большинство методов разработано на крупных представителях почвенной фауны.

Определение типов питания

Типы питания можно определить на основании изучения морфологии ротового аппарата и пищеварительного тракта. Большинство почвенных беспозвоночных относятся к четырем группировкам: 1) потребители крупных оформленных пищевых частиц; 2) детритофаги, заглатывающие пищу вместе с органическими остатками; 3) потребители жидкой пищи (сосущие формы и животные с внекишечным пищеварением); 4) микрофаги (по-

требители мелких частиц, взвешенных в воде, или жидких продуктов гниения).

1. Потребители крупных пищевых частиц — фитофаги (ризо- и ксилофаги), сапрофаги, питающиеся остатками корней или наземным опадом, неспециализированные хищники, которые заглатывают свои жертвы целиком или размельчают их в ротовой полости либо разрывают покровы и выгрызают мягкие ткани. Представители членистоногих, потребляющие живые или отмершие растительные ткани, характеризуются наличием грызущего ротового аппарата. Захват и размельчение пищи осуществляются мандибулами. Удерживание размельченных пищевых частиц и транспортировка их в глотку происходят при участии ротовых придатков, вооруженных шипиками или щетинками (лабиомаксиллярный комплекс у насекомых, гнатохилариум у диплоид). У личинок жесткокрылых описаны специализированные перетирающий и скребуший типы ротового аппарата, у хищников — колюще-режущий ротовой аппарат (Стриганова, 1966). Личинки длинноусых двукрылых, питающиеся плотной пищей, также имеют ротовой аппарат грызущего типа с одно- и двучлениковыми мандибулами и развитыми максиллами (Schremmer, 1951). Хищники, питающиеся крупной добычей, характеризуются наличием колющих мандибул (насекомые), ногочелюстей (Opisthognatha, Mymaropoda), хелицер (Aranea), зубчиков или онхов в ротовой полости (нематоды), с помощью которых они хватают и убивают жертву и разрывают ее покровы.

2. У членистоногих детритофагов, заглатывающих почву, ротовые аппараты, как правило, сходны по структуре с таковыми у потребителей крупных частиц. Для детритофагов характерна более сложная дифференцировка кишечника, что рассматривается как адаптация к увеличению площади поверхности кишечного эпителия, соприкасающегося с пищевой массой. В результате достигаются большая эффективность пищеварения и быстрая обработка большого объема низкокалорийного субстрата.

У энхитреид кишечник имеет четковидную форму с расширениями на каждом сегменте тела. У дождевых червей, питающихся в минеральном горизонте почвы, тифлозоль отличается большими размерами и более сложной складчатой структурой в сравнении с потребителями листового опада (Семенова, 1966). На примере мегасколелид разработан метод количественной оценки

величины тифлозоля в отношении к длине окружности сечения кишечника (T) по промерам 30-го сегмента (Тхай Гран Бай, 1982):

$$T = \frac{2h}{d\pi} 100\%,$$

где h — высота тифлозоля; d — диаметр кишечника на уровне 30-го сегмента.

У потребителей опада величина T составляет 1—4%, у детритофагов — 14—31%. У представителей люмбрицид соответствующие величины T на порядок выше: у потребителей опада — 15%, у детритофагов — 90—102% (Тхай Гран Бай, 1982).

У насекомых и мокриц в среднем и заднем отделах кишечника развиты слепые выросты, количество и величина которых различаются у фитофагов и сапрофагов, потребляющих остатки, богатые лигно-целлюлозными компонентами, и почвенный дегрит (личинки пластинчатых жуков, длинноусых двукрылых, мокриц) (Гиляров, Семенова, 1977).

3. У потребителей жидкой пищи (соки растений, животных) формируются разнообразные приспособления к прокалыванию покровных тканей жертв или растительных объектов и всасыванию соков. У хищников с внекишечным пищеварением пищеварительный секрет и соки жертвы проводятся по внутримандибулярным каналам. У личинок двукрылых мандибулы трансформируются в острые крючки,двигающиеся в дорсовентральном направлении параллельно друг другу (Определитель..., 1964). У личинок шелконов густое опушение вентральных ротовых органов образует «оральные фильтры», пропускающие лишь жидкие продукты и частички величиной в несколько десятков микрон. Сходные с хищниками структуры ротового аппарата формируются у фитофагов, питающихся соками корней. Они отличаются лишь по форме мандибул.

4. Микрофаги, заглатывающие водную суспензию, либо характеризуются частичной редукцией ротовых частей (Polyzoniidae—Diplopoda), либо имеют специализированный ротовой аппарат. Ротовые аппараты фильтрующего типа описаны у личинок жуков. Пищевые частицы задерживаются на оральных фильтрах и прессуются в компактный комок между эпи- и гипофаринксом. Затем пищевая масса транспортируется в глотку (Стриганова, 1966).

Среди нематод микрофагия характерна для эузапробионтов. Они пропускают водную суспензию через кишечник. Органические частицы отфильтровываются от воды и прессуются лопастями кишечника (Doncaster, 1962).

Таким образом, изучение функциональной морфологии ротовых частей и кишечного тракта у почвенных беспозвоночных может дать представление о физических свойствах их пищи, способах ее добычи и обработки в ротовой полости и кишечнике.

Методы определения пищевой избирательности

1. Анализ содержимого кишечника. У потребителей плотных пищевых частиц можно идентифицировать не только объекты питания, но и степень их механического разрушения в кишечном тракте. Эти методы более подробно разработаны на представителях мезофауны (мокрицах, диплоподах, дождевых червях) (Dunger, 1963). У животных, усыпленных эфиром, вскрывают кишечник и готовят препараты содержимого разных его отделов в жидкости Фора. На препаратах можно провести количественную оценку соотношения частиц разного происхождения, их величины, степени мацерации. Содержимое кишечника растительноядных и сапротрофных форм хорошо сохраняется и у животных, фиксированных в жидкости Буэна. После отмывки животных спиртом содержимое их кишечника можно заливать в препараты для микроскопического изучения.

Различия преферендумов у почвенных сапрофагов можно устанавливать в ряде случаев при вскрытии больших серий животных. Например, при сравнении содержимого зоба дождевых червей *Nicodrilus caliginosus* и *Lumbricus rubellus* из одного лесного участка Московской области оказалось, что из 30 экземпляров *L. rubellus* листовой опад найден у 12, остатки древесины — у 6 червей, остатки корней — у 6, а у *N. caliginosus* листовой опад — у 6, остатки древесины — у 12, корни — у 6 животных (Стриганова, 1980).

Для мелких форм, питающихся микрофлорой и частичками органического детрита (энхитреиды, микроарthropоды), эффективно приготовление поперечных срезов кишечника. Например, у энхитреид на поперечных срезах подсчитывали количество грибных гиф, минеральных и органических частиц (О'Сонног, 1967). Сравнения с со-

держанием этих компонентов в пробах почвы на препаратах показывают степень избирательности этих детритофагов (рис. 37).

Для приготовления срезов животных фиксируют в жидкости Буэна, обезживают спиртами и метилбензоатом, заливают в парафин. Срезы (6—8 мкм толщиной) окрашивают железным гематоксилином.

2. Экспериментальное определение пищевой избирательности. У специализированных фитофагов, сапрофитофагов, хищников, микрофитофагов пищевые предпочтения можно определять в лабораторных условиях. Животных помещают в сосуд с почвой или песком и предлагают им несколько видов пищи, зная примерный круг их пищевых объектов в природных местообитаниях.

Если пищевыми объектами служат листовая опад или кусочки мертвой древесины, то для унификации формы и величины пищевых частиц из листьев вырезают диски, а древесину режут на брусочки одинаковых размеров. Влажность растительных объектов должна быть близкой к таковой в природных условиях.

Степень предпочтения тех или иных видов пищи крупными животными оценивают по количеству убитых жертв, по массе либо площади потребленного растительного материала. Для мелких животных используют такие показатели, как концентрация подопытных объектов вокруг определенных видов пищи, наличие и количество экскрементов или яиц около пищевых объектов, наличие погрызов. На основании таких опытов составляют ряды предпочтительности пищи для определенных видов животных (Lyford, 1943; Vornebush, 1953; Dungen, 1963; Satchell, Lowe, 1967). При этом следует иметь в виду, что в природе животные предпочитают потреблять наиболее доступные объекты. Их предпочтения могут сдвигаться в разные сезоны и в разных местообитаниях, в зависимости от гидротермических условий, пресса конкуренции и других факторов.

Сложнее определять пищевые предпочтения у микрофитофагов. Опыты по изучению их пищевой избирательности проводят в лабораторных или полевых условиях. В лаборатории определенное количество животных помещают в сосуды со стерильным песком, или влажной фильтровальной бумагой, или агаром, где на равном расстоянии расположены диски заранее выращенных чистых культур грибов, бактерий, дрожжей, выделенных из

почвы, где обитают исследуемые животные. При работе с клещами, коллемболами, энхитреидами опыты можно проводить в чашках Петри диаметром 10—12 см, раскладывая культуры микроорганизмов по периметру чашки. Через каждые 1-2 сут регистрируют количество животных на разных культурах, наличие погрызов (в некоторых случаях — площадь съеденного материала), наличие экскрементов (Müller, Beyer, 1965; Hartenstein, 1972; Luxton, 1972; Стриганова, 1980).

В природных условиях избирательность микрофитофагов проверяют с помощью «грибных ловушек» (Dash, Cragg, 1972). На агаровых или жидких срезах выращивают чистые культуры микроскопических грибов. Затем грибные пленки определенного размера (диски или квадратики) помещают в мешочки из нейлоновой сетки с таким диаметром отверстий, сквозь которые могут свободно мигрировать животные. Сетки закладывают в подстилку или на поверхность почвы. Через 12—24 ч сетки выбирают из почвы и под биноклем определяют состав и численность животных, привлеченных к определенным видам грибов.

Для определения спектра пищевых объектов микрофитофагов делают также посевы на специализированные среды содержимого кишечника и экскрементов животных, изъятых из природных местообитаний (см. часть III, гл. 2).

3. Определение пищевой избирательности хищников. Известные методические сложности представляет определение спектра пищевых объектов хищников. Изучение содержимого кишечника и идентификация жертв по хитиновым остаткам возможна лишь для форм, специализирующихся на членистоногих и заглатывающих жертву целиком. У хищников, использующих червей и моллюсков, а также сосущих форм содержимое кишечника представляет жидкий однородный субстрат. В последнее время широкое распространение получили методы радиоизотопной маркировки жертв и серологический анализ содержимого кишечника хищника.

Маркировка жертв радиоизотопами с последующим определением содержания соответствующего изотопа в теле хищника широко использовалась в прикладной энтомологии для выявления естественных врагов вредителей сельскохозяйственных культур (Jenkins, Hasett, 1950; Гриванов, Антоненко, 1970). Недостатком этого метода является то, что выпуск в природу меченых

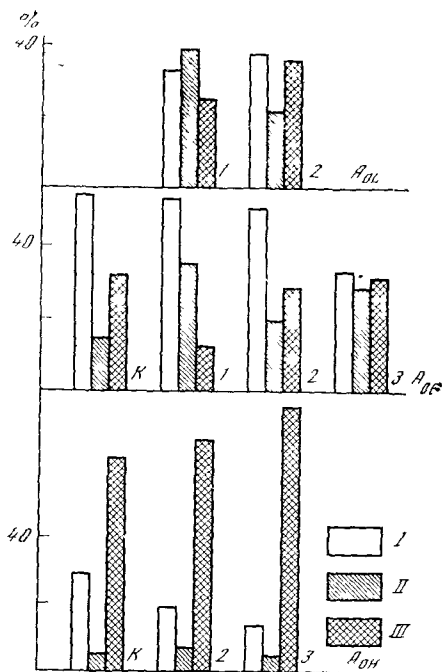


Рис. 37. Содержимое кишечника энхитрид в разных горизонтах почвенного профиля (по: O'Connor, 1967)

- K* — контроль (почва);
- 1* — *Cognettia cognettii*;
- 2* — *Marionina cambrensis*;
- 3* — *Achaeta eiseni*.
- I* — остатки опада,
- II* — гифы грибов,
- III* — минеральная почва.
- A_{0L}* — листовая подстилка,
- A_{0F}* — ферментативный горизонт;
- A_{0H}* — гумусовый горизонт

жертв, а также изъятие животных для мечения нарушают соотношение численности природных популяций хищников и жертв и сдвигают преферендумы хищников.

Серологический метод детально разработан на насекомых (Сергеева, 1970, 1974; Титова, 1970; Соболева-Докучаева, Подоплелов, 1972). В последние годы он применялся для исследования пищевых отношений почвенных хищников (Сергеева, 1982). Подробная библиография серологических работ с описанием методики приведена в обзоре Борхэма и Охайю (Bozham, Ohiagu, 1978).

Для определения трофических связей хищников используется реакция преципитации между антигенами остатков жертв, извлеченных из кишечника хищника, и сыворотки крови лабораторного животного, в которой имеются антитела, выработанные к данному антигену. Антитела вырабатываются в крови при иммунизации животных антигенами предполагаемых жертв.

Для изготовления антигена используют водно-растворимые белки предполагаемых жертв. Этих животных выдерживают несколько дней без пищи, затем пригото-

ляют из них гомогенат с физиологическим раствором ($\text{pH}=7$) или фосфатным буфером ($\text{pH}=7,4$). Концентрация тканей в гомогенате порядка 1 г на 3 мл буфера. Более полная экстракция требует избытка буфера. Гомогенат выдерживают 24 ч при 4°C , затем экстракт отделяют центрифугированием с охлаждением (5—7 тыс. об/мин, 30—60 мин). Супернатант хранят в холодильнике.

Концентрация белка в экстракте определяется по биуретовой реакции. Для повышения содержания белка прибегают к различным методам концентрирования — вымораживанию либо другим способам, не требующим нагревания. В замороженной смеси белок оттаивает раньше, чем вода. Например, при размораживании экстракта с исходной концентрацией белка 3,1 в $1/3$ объема оттаявшей жидкости концентрация белка повышается до 11,9 (Сергеева, 1974). Проводят также высушивание белка в вакууме с последующим растворением в меньшем количестве буфера, диализ против ионов солей при 4°C . Длительное хранение белков рекомендуется в замороженном и высушенном состоянии.

Для получения антисыворотки в качестве подопытных животных чаще всего используются кролики. Существуют разные методы иммунизации — под кожу, внутривенно, внутримышечно, в лимфатические узлы. Количество вливаний варьирует от 2 до 15 у разных авторов. Соответственно варьирует частота инъекций и одноразовые дозировки вливаний (Сергеева, 1982). При инъекциях в качестве разбавителя используются калийные квасцы. Чувствительность антисыворотки проверяют реакцией кольцепреципитации или преципитации на агаре (см. ниже).

Для проверки титра из проб крови кролика делают серию разведений антигена и устанавливают максимальное разведение, дающее положительную реакцию. Для разных видов насекомых титры варьируют от 1 : 5000 до 1 : 20 000. Показана возможность использования антисывороток с чувствительностью 0,05 мг/мл для почвенных беспозвоночных (Титова, 1970; Сергеева, 1982) и 0,025 мг/мл — для вредной черепашки (Титова, 1970). Сыворотки хранятся в запаянных ампулах в замороженном состоянии.

При анализе питания хищников готовят мазки содержимого кишечника на фильтровальной бумаге. Мелких животных раздавливают целиком, а у крупных

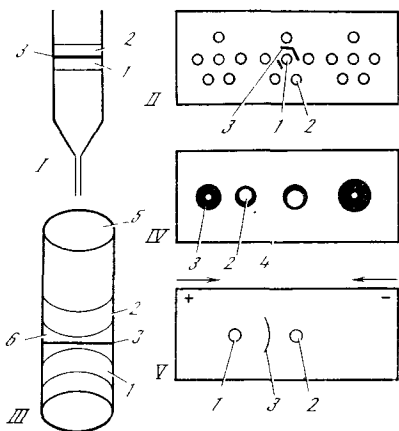
вычлняют кишечник. У жужелии для мазка испльзуют пищевую каплю, выбрасываемую из ротового отверстия при раздражении жука. Мазки хранят в запаянных сосудах над слоем CaCl_2 , отделенным слоем ваты от препарата, в морозильной камере холодильника.

Перед определением препарат замачивают в капле (0,2 мл) физиологического раствора. Экстракцию проводят при 4°C в течение 24—48 ч (Loughton et al., 1963). Описаны разные способы проведения реакции преципитации (Vogelham, Ohlagn, 1978) (рис. 38): а) капиллярный кольцевой тест. В капилляре слой антигена сверху соприкасается со слоем антисыворотки. На границе этих слоев образуется кольцо преципитации в течение двух часов; б) тест встречной диффузии основан на способности антигена и антисыворотки диффундировать через индифферентную среду (агаровый гель). На стеклянную пластинку наливают агаровый гель. После застывания в нем вырезают лунки диаметром 2 мм на расстоянии 6 мм (рис. 38). В центральную лунку помещают каплю антисыворотки, в боковые — антигены испытуемых видов. Пластинку помещают на 48 ч во влажную камеру, после чего проявляются линии преципитации. Для фиксации линий преципитации агар высушивают, а белки окрашивают амидошварцем, тиазин-красным, трипан-синим. В случае нечетких линий перед окрашиванием препараты промывают растворителями красок либо обрабатывают 0,65%-ным раствором CdCl_2 , после чего вокруг лунки появляются непрозрачные ореолы; в) колоночный тест. В трубку диаметром 2 мм втягивают слой 0,6%-ного агара толщиной в 6 мм. С разных концов агарового слоя вводят антисыворотку и антиген. Инкубация длится 3 сут при комнатной температуре. Как и в предыдущем случае, здесь использован эффект диффузии реагирующих компонентов навстречу друг другу; г) метод перекрестного электрофореза, основанный на том, что гаммаглобулины (антитела) направляются к катоду, а другие белки — к аноду. Метод высокочувствителен, и линии преципитации появляются уже через 3 ч; д) метод односторонней радиальной диффузии в сочетании с электрофорезом, требующий специальной аппаратуры. (Подробное описание его см.: Pettersson, 1972).

Метод серологического анализа дает возможность определить пищевую специализацию хищников в их природных биотопах. В литературе имеются попытки использовать данный метод и для количественной оценки

Рис. 38. Методы проведения реакции преципитации (по: Boham, Ohiaqu, 1978)

- I — капиллярный кольцевой тест;
 II — тест двойной диффузии;
 III — колоночный тест;
 IV — радиальная диффузия;
 V — перекрестный электрофорез.
- 1 — антигено; 2 — антиген;
 3 — преципитация;
 4 — агар с антителами;
 5 — парафин;
 6 — агар



пресса хищничества на разных видах жертв (Dempster, 1960; Rotschild, 1966; Куперштейн, 1974). Для этого необходимы определения длительности переваривания пищи хищником и количества жертв, потребляемых за один прием пищи. Количество потребленных жертв (Q , %) определяется по формуле Демпстера и Ротшильда:

$$Q = \frac{ABC}{d \cdot 100},$$

где A — плотность жертв; B — процент особей, давших положительную реакцию преципитации; C — количество жертв, съедаемых за один прием пищи; d — продолжительность переваривания пищи.

Минимальное число жертв, изымаемое популяцией хищника, определяется по формуле (Dempster, 1960; Service, 1976)

$$E = \frac{PmT}{t},$$

где P — плотность популяции хищника; m — относительное количество положительных реакций преципитации; T — плотность популяции жертв; t — длительность переваривания пищи хищником.

Недостатком серологического метода является то, что близкие виды жертв могут давать перекрестные реакции с антисывороткой. Этим методом нельзя также достаточно точно определить пищевые предпочтения хищников, использующих широкий спектр жертв и пере-

ключающихся с одного объекта на другой в разные сроки, определяемые доступностью тех или иных пищевых объектов.

Определение пищевого рациона и усвояемости пищи

Вопросы питания, обмена веществ и участия почвенных беспозвоночных в круговороте веществ входят в широкий круг проблем, связанных с изучением вторичной продуктивности в наземных экосистемах. В настоящее время разработана международная система наиболее важных понятий, используемых в исследованиях вторичной продукции, и приняты их унифицированные обозначения (Petruzewicz, 1967). Ниже приводятся некоторые символы, применяющиеся при исследовании вопросов питания животных:

C (consumption) — количество пищи, потребляемое животным

A (assimilation) — усвоенная часть пищи

FU (rejecta) — неусвоенная часть рациона

Ex (excreta) — конечные продукты обмена

R (respiration) — дыхание, или трата на обмен

P (production) — прирост массы тела.

Эти величины находятся в следующем соотношении:

$$C = A + FU; \quad A = R + P.$$

Для расчетов усвояемости пищи предложены различные методы; коэффициент усвоения пищи определяется по формуле, предложенной Г. Г. Винбергом (1962, 1964):

$$1/A = \frac{C - FU}{C} 100\%,$$

где $1/A$ — безразмерный коэффициент, показывающий отношение количества усвоенной пищи к общему количеству потребленной пищи. Данная формула позволяет легко определить усвояемость животными разных видов пищи.

У большинства крупных почвенных беспозвоночных, питающихся растительной пищей, экскременты в основном состоят из непереваренных остатков и минеральных частиц. Продукты конечного обмена занимают такую незначительную часть массы экскрементов, что ею можно пренебречь. Поэтому для многих групп возможно определение усвояемости пищи весовым методом, когда сравнивается масса потребляемого и выбрасываемого при дефекации материала (Стриганова, 1969). Это относится

прежде всего к тем беспозвоночным, которые питаются растительными тканями, сохраняющими свою структуру, т. е. к фитофагам, сапрофитофагам и хищникам с грызущим ротовым аппаратом. Для таких животных, как дождевые черви, обитающие и питающиеся в глубоких горизонтах почвы и потребляющие органический материал, диспергированный в минеральной массе почвы, этот метод неприменим. Весовым методом нельзя также определить усвояемость пищи у животных, выделяющих жидкие экскременты, например у проволочников.

Количество потребленной пищи можно определить на основании усвояемости и массы экскрементов (Phillipson, 1960):

$$C = \frac{W \cdot 100}{100 - U'}$$

где W — масса экскрементов; U' — усвояемость пищи.

Массу ассимилированной пищи определяют по величине рациона и усвояемости (Phillipson, 1960):

$$A = \frac{IU'}{100}$$

где I — величина рациона; U' — усвояемость пищи.

Последние два уравнения можно вывести из формулы Г. Г. Винберга (1).

Пищевой рацион животных обычно соотносят с массой их тела, так как последняя может различаться на порядок у представителей отдельных видов даже в пределах одного семейства. Например, у диплопод масса взрослых особей *Polyconoceras* достигает 33 г, *Pachyiuulus* — 2—3 г, *Cylindroiulus* — 0,06 г. На порядок различается масса тела разных видов мокриц, энхитреид, коллембол. Поэтому при межвидовых сравнениях используется, как правило, коэффициент потребления пищи k , представляющий отношение массы съеденной пищи к массе тела.

Пищевой рацион определяют в единицах абсолютно сухой массы. Величина k рассчитывается либо на сухую, либо на живую массу тела. Более точным безусловно является соотношение с сухой массой, так как содержание воды в теле животных может колебаться в пределах нескольких процентов в зависимости от влажности почвы и подстилки. Скорость потребления пищи у сапрофагов колеблется в зависимости от разных факторов, которые будут обсуждаться ниже.

Для характеристики пищевых потребностей животных более информативным показателем представляется масса усвоенной пищи (А) или ее соотношение с массой тела. Для сравнения пищевой активности беспозвоночных, сильно различающихся по массе тела, но со сходными пищевыми режимами, предложен показатель удельной усвояемости k_A (Стриганова, 1977):

$$k_A = \frac{A}{W} 100\%,$$

где W — масса тела.

В трофологической литературе, касающейся наземных беспозвоночных, встречаются и другие методы расчета пищевых рационов для межвидовых сравнений. Например, метод Коновера (Conover, 1966) учитывает соотношение между беззольным и сухим весом пищи, исходя из того, что в пищеварении участвуют только органические компоненты пищи:

$$U = \frac{F' - E'}{(1 - E') F'} 100\%,$$

где F' — отношение беззольной сухой массы к сухой массе потребленной пищи; E' — то же, в экскрементах.

Расчеты на беззольную массу или на углерод проводятся нередко в почвоведении. Однако при исследовании питания почвенных животных (даже детритофагов) применение этого метода ограничено. В пищеварении многих сапрофагов большую роль играют и неорганические соединения. Калькофильные формы (диплоподы, мокрицы, моллюски) активно потребляют соединения Са из почвы. Усвояемость Са из пищи у мокриц *Trichoniscus balticus*, например, составляла 80—94% (Radu et al., 1971). При таком высоком потреблении Са животные нередко нуждаются в дополнительных источниках этого элемента, если его в растительной пище немного либо он содержится в трудно доступных формах. Поэтому у мокриц и других калькофилов наблюдается регулярное потребление сброшенных при линьке собственных экзuviaев, богатых Са. У диплопод и мокриц минеральные частицы почвы — обязательный компонент содержимого кишечника наряду с растительными остатками. На препаратах они составляют около $\frac{1}{3}$ от общего числа плотных частиц (Dunger, 1968).

Специальные исследования усвоения минеральных соединений почвенными беспозвоночными проводились

на примере виноградной улитки (Bogucki, Helczyk-Kazeska, 1977). Ассимиляция неорганических соединений в растительных тканях достигала у животных 72—82%. Авторы экспериментально подтвердили ненадежность метода расчета усвоения пищи по органическому веществу и показали преимущества гравиметрического метода.

При определении величины пищевого рациона почвообитающих сапрофагов и детритофагов нередко используют в качестве корма стандартный органический субстрат с известным химическим и микробиологическим составом. Например, пищевую активность дождевых червей нередко определяют при кормлении их навозом (Guild, 1955; Pearce, 1972). Энхитреид культивируют на аксеничных или моноксеничных средах (Dougherty, Solberg, 1960, 1961). Здесь следует строго подходить к экстраполяции полученных в лабораторных опытах данных на природные популяции животных с учетом различий механического и химического состава пищевых субстратов, использованных в модельных опытах.

Весовой метод. Весовой метод определения пищевого рациона широко применяется для разных трофических групп почвенных беспозвоночных. Масса пищи, потребленной за единицу времени, оценивается по разнице массы пищевого материала до и после опыта. Величину рациона и усвояемости пищи определяют в краткосрочных опытах длительностью 1—7 сут. Беспозвоночных содержат в сосудах с пищевым субстратом поодиночке или небольшими группами. Техника проведения таких определений весьма разнообразна и зависит от пищевой специализации животных, а также от специфики ритмов приема пищи и дефекации. Наиболее просты в методическом отношении определения пищевого рациона у беспозвоночных, питающихся мало разрушенными частями растений, сохраняющими свою структуру, или живыми тканями.

При работе с первичными разрушителями опада его предварительно высушивают до абсолютно сухого состояния при температуре до 105°. Взвешенную порцию опада замачивают водой, чтобы ткани пропитались влагой, а затем удаляют избыточную капельную влагу фильтровальной бумагой. Как известно, мокрый растительный материал так же плохо потребляется животными, как и слишком сухой. Влажный опад помещают в опытные сосуды и сажают туда животных. По окончании опыта отбирают экскременты, очищая от них поверх-

ность несъеденных тканей. Остатки опада снова высушивают и взвешивают. При замачивании некоторых видов листового и травянистого опада из него выщелачиваются значительные количества подвижных соединений. При этом теряется до 3—4% сухого веса. Поэтому перед началом опытов следует проверить степень колебаний исходной сухой массы испытуемого растительного материала. В случае значительных потерь необходимо вносить поправку на изменение сухой массы опада при увлажнении.

При работе с ризофагами и ксилофагами высушивать пищевой материал перед опытом не рекомендуется, так как при этом возможны нарушения его биохимической и структурной специфики, что влияет на пищевую ценность. До и после опыта определяют сырой вес древесины или корней, изъятых из почвы. Однако в течение опыта материал подсыхает в сосуде. Потерю влаги из растительного субстрата можно определить в контрольном сосуде с растительным материалом без животных. Разница его сырой массы в начале и в конце опыта показывает степень подсыхания. Кроме того, параллельно определяют сухую массу растительного материала, которым кормят животных до опыта, и сухую массу остатков материала (после опыта). Величину рациона выражают в единицах абсолютно сухой массы.

При определении пищевой активности крупных беспозвоночных (мезофауна) опыты проводят в чашках Петри (диаметр 4,5—10 см), в почвенных металлических или стеклянных бюксах. Сосуды закрывают крышками для сохранения влажности воздуха, близкой к 100%. Площадь и объем опытного сосуда должны позволить животному свободно передвигаться. Кроме того, пищевой материал должен занимать не более $\frac{3}{4}$ объема сосуда для сохранения достаточного объема воздуха. Иначе в ограниченном пространстве закрытого сосуда при наличии разлагающегося или живого растительного материала может создаться повышенная концентрация углекислоты, подавляющей активность животных. Например, кивсяки *Pachyiulus foetidissimus* и *Amblyiulus continentalis* очень чувствительны к дефициту кислорода. При накоплении в сосудах экскрементов они прекращали питание и выходили на поверхность растительного субстрата (Стриганова, 1980).

Количество пищевого материала должно превышать потребности животных в течение опыта в 5—10 раз.

Опад, древесина или корни растений служат не только кормом, но и укрытием для животных, адаптированных к обитанию в плотной среде. В конце опыта в сосуде должна остаться масса материала, достаточная для поддержания стабильных гидротермических условий. Например, в опытах с кивсяками при их суточном рационе 20—50 мг в опытные сосуды необходимо помещать не менее 200—300 мг листвы.

Длительность опытов по определению пищевой активности должна превышать скорость переваривания одной порции пищи. Предварительно необходимо выяснить длительность переваривания пищи и ритмы принятия пищи и дефекации. Это определяется визуальными наблюдениями путем вскрытия кишечника животных через определенные промежутки времени. Среди почвенных животных у большинства растительноядных форм кишечник постоянно заполнен пищей. Прием новой порции пищи начинается до опустошения задней части кишечника. Но для некоторых видов мокриц имеются данные о том, что они чередуют периоды интенсивного питания с периодами переваривания пищи, на что уходит несколько дней. Однако эти сведения получены путем расчетов, а не прямых наблюдений. Длительность пребывания пищи в кишечнике определяется при кормлении животных меченой пищей либо при кормлении голодных животных с пустым кишечником. Последнее возможно, если у животных ритм дефекации не нарушается при голодании. Чаще всего при работе с крупными беспозвоночными длительность опытов по определению рационов составляет 1—2 сут.

Весовой метод используется и для хищников. Например, при определении показателей пищевой активности пауков их содержали в пластиковых сосудах и кормили сверчками (Moulder, Reichle, Auerbach, 1970). Пауки выедали мягкие ткани, оставляя хитиновые покровы. Процесс этот длился около 1,5 ч. После того как хищники оставляли свою жертву, остатки ее взвешивали. Величину рациона определяли по разнице живой массы сверчка до опыта и его остатков.

Сложнее определить величину пищевого рациона у детритофагов, заглатывающих почву. Методика этих определений разработана на примере дождевых червей (Стриганова, 1982). Сначала определяют массу пищи в кишечнике: червей, собранных из их природных местобитаний, с полным кишечником взвешивают и помеща-

ют в чашки Петри на мокрые марлевые матрасики для опустошения кишечника. Одновременно определяют сухую массу питающихся червей и содержание воды в почве, откуда были взяты черви. Для получения достоверных результатов необходимо проводить определение не менее чем на 60—70 животных. Из них 20 червей сразу высушивают, а остальных оставляют для освобождения кишечника. Вычисляют процентное отношение сухой и живой массы животных и по нему рассчитывают сухую массу червей, оставленных на опыте. Полное опорожнение кишечника наступает через 1—2 сут. После этого червей взвешивают, а затем высушивают и определяют сухую массу. По разнице сухой массы питающихся и голодных животных определяют сухой вес пищи в кишечнике. Сравнения живой массы животных не дают результатов, так как во влажной среде (на мокрых матрасиках) черви насыщают воду через покровы. Нередко голодные животные весят больше, чем питающиеся, находящиеся в умеренно влажной почве.

Отдельно проводят определение скорости переваривания пищи. Это — трудоемкие опыты, так как в нормальных условиях в период активности у червей и многих других детритофагов кишечник постоянно заполнен пищей. Для измерения времени прохождения пищи по кишечнику используют меченую пищу — почвенный детрит. Мечение пищевых объектов широко используется в трофологических исследованиях водных животных. При работе с детритофагами используют твердые минеральные частицы, не переваривающиеся в кишечнике и нейтральные для животного — тальк, графит, а также пищу, окрашенную красками, не токсичными для животных и не изменяющими свой цвет в кишечнике. Для почвенных детритофагов в качестве метки использовались древесные опилки, окрашенные концентрированным спиртовым раствором эозина. Ярко-розовая окраска древесины довольно прочная, не требует закрепления кислотными растворами; краска не растворяется в воде. Опилки, опущенные в концентрированный спиртовой раствор эозина, окрашиваются в течение нескольких минут. Затем их отмывают водой и высушивают при 100°С для полного удаления остатков спирта. Эта окраска нейтральна, не влияет на активную реакцию кишечника животных и не изменяется при прохождении опилок через отделы пищеварительного тракта с разными значениями рН. У червей клетчатка в опилках частично пе-

реваривается, но в копролитах розовые частицы четко выделяются на фоне бурого детрита. Перед опытами почву просеивают через сито с диаметром отверстий 1,5 мм. На нем задерживаются наиболее крупные частицы растительного опада. В просеянную почву добавляют окрашенные опилки в количестве, примерно равном объему изъятых растительного материала.

При кормлении червей меченой, пищей определяют: 1) момент начала приема пищи; 2) длительность прохождения метки по кишечнику.

Питающихся червей помещают в сосуд с меченой почвой. Спустя 15 мин из этого сосуда начинают выбирать с пятиминутными интервалами по пять червей, фиксируют их в спирте и вскрывают зоб. Отмечают момент появления метки в зобе. Обычно метка обнаруживается в зобе червей через 25—40 мин. У представителей одной популяции индивидуальные различия начала потребления пищи не превышают 5 мин. Червей держат в меченой пище 1 ч. Затем их высаживают на мокрый матрасик и регистрируют время выхода копролитов. В копролитах под биноклем регистрируют появление красных опилок. Начало выхода метки в копролитах сильно варьирует у разных особей. Для этих определений требуется большая серия червей — 25—30 экз. Результаты должны быть статистически обработаны.

Величина пищевого рациона (в мг/г живой массы) червей рассчитывается по формуле

$$C = \frac{W_F \cdot 24}{tW},$$

где C — суточный рацион; W_F — масса пищи; t — время прохождения пищи по кишечнику; W — живая масса питающихся животных.

У червей и других животных, у которых живая масса сильно колеблется в зависимости от влажности почвы, величину рациона выражают в расчете на единицу живой массы.

Калориметрический метод. Так как многие беспозвоночные, питающиеся крупными растительными и животными объектами, избирательны к отдельным частям и тканям отмерших или живых организмов, простая регистрация массы потребленной за единицу времени пищи недостаточна для оценки энергетических потребностей животного. Более информативен метод определения рациона по калорийности.

Для определения калорийности органического вещества существует ряд методов, из которых наиболее точен метод прямой калориметрии. Измерения проводятся в приборе, называемом калориметрической бомбой. Методика работы с бомбой подробно излагается в инструкции к прибору. Наиболее распространены калориметрические бомбы типа СКБ-52, Бертелло, «Крекер». При соблюдении всех условий работы с бомбой точность определения теплоты сгорания биологического материала порядка $\pm 1\%$.

Кроме того, нередко используется метод мокрого сжигания (Остапеня, 1965). Испытуемый материал растирают в ступке и просеивают сквозь сито с отверстиями 0,25 мм. Навеску материала помещают в колбу на 50 мл и добавляют 10 мл серно-хромовой смеси. Серно-хромовая смесь представляет 0,1 н. раствор $K_2Cr_2O_7$ в концентрированной H_2SO_4 . Окисление проводится в присутствии катализатора Ag_2SO_4 (100 мг). Колбы нагревают в течение 15 мин при температуре $150^\circ C$ в сушильном шкафу. Затем после остывания к содержимому колб добавляют 15 мл дистиллированной воды. Остаток бихромата калия в растворе определяют на спектрофотометре при длине волны 440 мкм. Контролем служит серно-хромовая смесь. Расчет количества бихромата ведут по калибровочной кривой, которая строится по глюкозе. Калорийность глюкозы равна 3,8 ккал/г. Навеска испытуемого материала при анализе растительных тканей и экскрементов животных составляет несколько десятков миллиграмм, при анализе беспозвоночных — до 10 мг.

Для оценки пищевого рациона и усвояемости пищи в энергетическом эквиваленте необходимо определение калорийности пищи, остатков пищи после опыта и экскрементов животных. Нередко показатели усвояемости пищи в энергетических единицах оказываются выше, чем результаты, полученные весовым методом. При частичном потреблении крупных пищевых объектов животные используют наиболее питательные компоненты. Многие хищники (например, пауки, жуки-железники) выедают мягкие ткани своих жертв, оставляя хитиновые панцири. Сапрофитофаги выедают паренхимные ткани и в меньшей степени — сосудистые пучки, содержащие больше склеротизированных и лигнизированных компонентов.

Радиоизотопный метод. Этот метод эффективно использовался при изучении питания ряда групп беспозво-

почных (панцирных клещей, мокриц, пауков) (Berthet, 1964; Reichle, 1967; Paris, Sikora, 1965; Radu et al., 1971; Moulder, Reichle, Auerbach, 1970).

В лаборатории животных кормят меченым опадом или детритом. При изучении пищевой активности почвенных беспозвоночных наиболее часто в качестве изотопов используется кальций-45, стронций-90 и углерод-14. Выбор изотопа для проведения эксперимента должен определяться тем, чтобы период его полураспада был длительнее, чем продолжительность опыта, чтобы он был нетоксичен для животного, а также возможностью измерения его излучения в лабораторных условиях.

Для мечения растительных остатков применяются такие способы, как погружение в раствор изотопа, инъекция меченого раствора в центральные жилки листа, выращивание растений в растворе изотопа или его атмосфере (C^{14}). Погружение в раствор изотопа используется чаще для мелко раздробленных растительных остатков — грубого гумуса и др. Для листьев этот способ непригоден, так как изотоп распределяется лишь по поверхности листовой пластинки и притом неравномерно. Для мечения листьев рекомендуется ставить ветки с листвою в раствор изотопа на 8—10 дней. За это время изотоп поступает в ткани листьев в достаточной для количественных измерений концентрации. Животных мечут путем добавления раствора изотопа в питьевую воду.

После мечения органический материал высушивают в термостате при 105° и затем измеряют концентрацию изотопа в исходном материале. После этого меченые растительные остатки помещают в пластиковые сосуды вместе с животными. Опыты с кормлением хищников мечеными жертвами также рекомендуется проводить в пластиковых сосудах. Через некоторое время после начала кормления измеряют содержание радионуклида в телах животных. В зависимости от задач исследования продолжительность таких опытов 1—20 дней.

Измерение концентрации радионуклида проводят стандартными радиометрическими или радиохимическими методами. Коэффициент ассимиляции определяют по следующим формулам:

$$\Delta A(t)/\Delta t = I - kA(t),$$

где $A(t)$ — количество усвоенного материала (в мг/экз); t — продолжительность опыта (в сут); I — скорость потребления пищи (в мг/экз/сут); k — коэффициент выве-

дения радионуклида (в сут) (Kowal, 1969).

$$I = \frac{kQ_e M}{a},$$

где I — коэффициент накопления радионуклида; k — биологический коэффициент выведения радионуклида (в сут); Q_e — активность радионуклида в теле животного; M — вес тела (в мг сухого веса); a — эмпирическая константа накопления радионуклида. Эта константа зависит от химических свойств элемента и от особенностей животного организма (Reichle, 1967).

Радиоизотопный метод используется преимущественно при изучении пищевой активности представителей микрофауны. Вследствие малых размеров животных и микроскопических количеств потребляемой ими пищи весовой и калориметрический методы определения скорости потребления и усвояемости пищи использоваться не могут.

Для определений усвояемости пищи весовым и калориметрическими методами необходимы данные по количеству экскрементов, выброшенных из организма в единицу времени. Сбор и взвешивание экскрементов возможны, если они оформлены в виде плотных отдельных и визуально отличаются от пищевого субстрата. Более легко проводить отбор экскрементов у первичных разрушителей опада. У хищников с внекишечным пищеварением, обладающих высокой усвояемостью пищи — порядка 70—80%, экскременты, как правило, жидкие. Их собирают на фольгу, которой закрывают дно сосуда, где содержались животные. Сбор массы экскрементов, достаточной для взвешивания и химических анализов, проводят в специальных опытах в течение 7—10 дней.

У сапрофитофагов экскременты обогащены микрофлорой, активность которой определяет химические изменения непереваренных остатков вне организма. Заметные химические изменения регистрируются уже через 5 сут. Поэтому при проведении специальных сборов экскрементов сапрофагов для химических анализов необходимо их отбирать ежедневно из сосудов с животными и для прекращения микробальной активности фиксировать толуолом или сразу же высушивать при 105°. Перед анализами остатки толуола удаляют путем подсушивания. У детритофагов, заглатывающих почву, экскременты невозможно отличить от непереваренной почвы. По-

этому степень усвоения пищи определяют у них лишь калориметрическим или радиоизотопным методами.

Для микрофитофагов методы определения пищевого рациона разработаны в основном на примере микрофагов. Количество съеденного мицелия определяют на агаризованных культурах, где мицелий выращивают сплошным «газоном» в чашках Петри. Определенное количество животных помещают в чашку с чистой культурой гриба, предварительно взвесив их. Через несколько недель животных снова взвешивают. По разнице общего количества животных и их суммарной биомассы судят об относительной ценности пищи. Количество съеденного мицелия рассчитывают по площади выеденных участков. Используют также определенные навески грибных пленок, выращенных на жидких средах. Пленки помещают в сосуды с увлажненным кварцевым песком, куда сажают животных. Для определений колебаний веса грибного мицелия в течение опыта ставят контрольные сосуды с такой же навеской мицелия, но без животных. При длительных опытах мицелий регулярно меняют через две недели, так как старый мицелий токсичен для животных. Расчет величины рациона проводится весовым методом.

Количественная оценка роли животных в процессах деструкции

Для определения скорости разложения, минерализации и гумификации растительных остатков разработаны многочисленные методы, в которых используются разные показатели интенсивности этих процессов: 1) скорость потери массы растительных остатков; 2) скорость разложения клетчатки; 3) интенсивность выделения углекислоты из разлагающегося материала; 4) сдвиг в соотношении C:N в растительных остатках и экскрементах животных.

Определение скорости потери массы. Динамика потери массы разлагающегося органического материала — наиболее интегрированный показатель скорости деструкции, особенно на первых ее этапах. Скорость потери массы определяется как абиотическими (выщелачивание осадками), так и биотическими процессами (трофическая активность микроорганизмов и животных, действие почвенных ферментов). Наиболее распространены методы определения потери массы в пробах раститель-

ного материала, изолированного нейлоновой сеткой (Witkamp, Drift, 1961), и на парных площадках, из которых одна служит контролем, а на другой зоогенная активность регулируется (Курчева, 1960, 1967)

Изоляция опада с помощью нафталина. Метод изоляции растительных остатков нафталином был предложен М. С. Гиляровым в 1941 г. для учета активности подстилочных сапрофагов на поверхности почвы. Применение нафталина основано на том, что он отпугивает животных, но не подавляет микробильную активность (Ghilarov, 1970). С помощью нафталина от животных освобождаются пробные площадки определенной площади, а затем сравнивается количество разложившегося на поверхности почвы (по потере массы) растительного материала в опыте и контроле. Этот метод детально был разработан Г. Ф. Курчевой (1960) и применен в лесостепных дубравах и на участках луговой степи. Модификация его создана в США на экспериментальной станции в Окридже (Crossley, Witkamp, 1964; Witkamp, Crossley 1966).

Пробные площадки в 1 м² ограничивают рамками из досок или проволочной сеткой высотой 15—20 см. Поверхность почвы на опытных площадках тщательно очищается от растительного опада, а затем точно взвешенное количество опада помещают внутрь рамок и распределяют ровным слоем на поверхности почвы. Рамки накрывают сверху нейлоновой сеткой с крупными ячейками, чтобы растительный материал не разносился ветром и на площадку не попадали остатки с соседних участков. Количество опада на площадках должно соответствовать средней годичной продукции листвы или травянистой растительности на данную площадь. Например, в дубраве под Курском на площадке помещали по 400 г воздушно-сухой растительной массы. Рамки можно помещать прямо на опад, лежащий на земле. В этих случаях за исходное количество растительной массы принимают вес опада, собранного на однотипных по размеру и растительности (парных) площадках. Затем одна половина площадок засыпается нафталином, а другая остается для контроля. Количество нафталина, оказывающее эффективное действие на животных, не менее 100 г/м². При дозе 100 г/м² численность микроартропод сокращается на 20% по сравнению с контролем (Witkamp, Crossley, 1966). Для полного подавления активности животных на мертвые растительные остатки следует вносить

по 300—400 г/м² нафталина и повторять обработку раз в три месяца.

Для получения достоверных результатов следует закладывать опытные и контрольные площадки не менее чем в трех повторностях в пределах однотипного участка. Для исследования динамики разложения растительного опада снятие опытов проводят в разные сроки. Число учетов соответственно увеличивает количество повторностей при закладке опыта. Например, при 4-кратных учетах необходимо закладывать по 12 опытных и контрольных площадок из расчета, что в каждый срок будут снимать по три повторности в опыте и контроле. Заметные различия в скорости разложения опада на опытных и контрольных площадках проявляются лишь через несколько месяцев.

Использование нафталина позволяет констатировать сам факт участия животных в процессах разложения растительного опада. Этот метод сыграл большую роль в почвенно-зоологических исследованиях в период, когда был мало изучен характер питания основных групп почвообитающих сапрофагов и характер их взаимоотношений с почвенной микрофлорой. В настоящее время данный метод может применяться для определения скорости потери веса при доступе или отсутствии животных. Однако цифровые данные, полученные этим методом, следует использовать с большой осторожностью: деятельность животных, как и микроорганизмов, в значительной степени зависит от погодных условий и может сильно различаться в одних и тех же местообитаниях в разные годы (Курчева, 1971). Нафталиновый метод не позволяет учесть деятельность животных в минеральных горизонтах почвы. Наконец, нафталин сам является питательным субстратом для определенных групп микрофлоры, и его добавление в почву модифицирует микробиологическую активность и связанную с этим динамику разложения растительных остатков. В контрольных опытах было установлено, что при внесении 200—250 г нафталина на пробные площадки площадью 8 м² через 7—10 дней численность микроартропод снижалась на 90%, но выделение углекислоты из почвы интенсифицировалось. Это свидетельствует о повышении микробальной активности после обработки нафталином (Williams, Wiegert, 1971). Увеличение микробальной активности после обработки нафталином отмечено и в лесных почвах (Witkamp, Crossley, 1966).

Изоляция опада с помощью нейлоновой сетки. Метод был разработан на Ротамстедской опытной станции в Англии (Edwards, Heath, 1963). Изоляция растительного материала в мешочках из нейлоновой сетки с ячейками разного размера позволяет дифференцировать степень участия разных размерных групп животных в процессе деструкции. Кроме того, в сетчатые мешочки можно помещать опад разных частей растений и закладывать эти мешочки в подстилку или почву на разную глубину. Таким образом, метод имеет более широкие возможности, чем изоляция с помощью нафталина.

Растительный материал предварительно высушивают и взвешивают, помещают в мешочки и закладывают в почву, где он быстро приобретает влажность окружающего субстрата.

Обычно используются следующие варианты сеток: I — 0,003 мм; II — 0,5—1,0 мм и III — 1,5 мм в диаметре. Контролем служат сетки с ячейками размером 5—7 мм. В самые мелкие ячейки практически не могут проникнуть многоклеточные беспозвоночные. Сетки промежуточного размера (II) ограничивают проникновение представителей мезофауны. В то же время микроартроподы, энхитреиды, нематоды могут свободно мигрировать через сетку. В отверстия с диаметром более 1 мм (III) проползают мелкие дождевые черви, личинки насекомых ранних возрастов, неполовозрелые диплоподы, мокрицы. Контрольные сетки пропускают практически всех почвенных беспозвоночных, встречающихся в почвах умеренного пояса.

Сетки с очень мелкими ячейками (0,01—0,003) в ряде случаев используют для оценки воздействия одних лишь абиотических факторов на скорость потери веса. При этом микробиальная активность подавляется обработкой толуолом (Злотин, Ходашова, 1974) либо смесью насыщенного раствора хлористой ртути и медного купороса (Vossbrinck, 1976). При сравнении с необработанными пробами скорость потери массы в таких мешочках ниже на 4% (Злогин, Ходашова, 1974)—7% (Vossbrinck, 1976). Эти данные, однако, следует использовать с учетом того, что в почве обработка микробостатическими веществами дает неполный и кратковременный эффект. При гибели микробиальных клеток высвобождаются ферменты, действие которых приводит к потере массы (Аристовская, 1980). После стерилизации численность бактерий сначала снижается, а через месяц уже дости-

гает контрольного уровня или превышает его (Пошон, Баржак, 1960).

Для каждого варианта опыта (вид растительных остатков, глубина закладки проб, диаметр отверстий сетки, сроки учетов и пр.) следует закладывать мешочки не менее чем в пяти повторностях. Длительность таких опытов 1-2 года. Известно, что при закладке в почву или подстилку растительного опада процесс разложения, в том числе потеря массы идет сначала очень интенсивно, а затем замедляется (Чернова, 1977). Поэтому при изучении динамики процесса деструкции в течение первых 1,5—2 мес необходимо еженедельно учитывать потерю массы. Затем промежутки между учетами увеличиваются до 1 мес. Количество повторностей в каждом варианте полевых опытов зависит, таким образом, от общей длительности его и частоты отбора проб.

В пробах растительных остатков, изъятых из нейлоновых сеток, можно наряду с потерей массы определять состав и численность мелких беспозвоночных. Для представителей мезофауны такие учеты малоинформативны, так как они требуют проб большей площади, а для группы микрофауны (микроартропод, энхитреид) объем проб в мешочках позволяет проводить достоверные количественные сравнения состава и плотности популяций (Edwards, Heath, 1963).

Скорость разложения оценивается обычно по разнице сухой массы испытуемого материала. Но в некоторых случаях при постановке опытов с листовым опадом в мешочки закладывают диски стандартного размера, вырезанные из листовой пластинки. Этим достигается унификация размеров исходного материала и суммарного периметра. При оценке скорости разложения измеряют площадь диска, выеденную животными, и относят ее к общей площади.

Механическая изоляция растительных остатков обладает рядом преимуществ в сравнении с химической изоляцией. Последняя вызывает сдвиги в групповом составе микрофлоры. В сегках, кроме того, можно изолировать небольшое количество растительного материала. Поэтому закладка большого числа повторностей не очень трудоемка и на опытном участке значительных нарушений структуры почвенного профиля нет.

Размер сетчатых мешочков обычно не превышает 8×10 см. В них закладывают по 3—4 г воздушно-сухого растительного материала в том виде, в каком он по-

стует в подстилку. Лишь при изучении медленно разлагающегося волокнистого материала (солома, стебли люцерны) их режут на кусочки по 1 см длиной (Nagelisch, Matschke, 1970). В случае использования дисков в мешочки закладывают по 50 дисков диаметром 2,5 см (Edwards, Heath, 1963).

Модификация метода изоляции растительных остатков нейлоновой сеткой была разработана для изучения деструкции подстилки в почвах, где основные агенты разрушения — дождевые черви (Перель, Карпачевский, 1968). На опытные площадки помещали взвешенное количество опада и сверху его покрывали нейлоновой сеткой. При этом черви могли проникать в подстилку из минеральных горизонтов и питаться опадом, заноса его в свои ходы. В опытных вариантах опад закладывали в сетчатые мешочки с диаметром ячеей 1 мм, через которые черви не проползали. При этом потеря массы в пробах опада была в 2—3 раза меньше, чем при доступе червей.

При экстраполяции полученных данных на природные условия следует учитывать, что концентрация органического материала, заложенного в сетки, в минеральных горизонтах почвы сама по себе может оказаться фактором, привлекающим животных, и очагом повышенной микробиальной активности. Внутри пробы гидротермический режим также отличается от окружающей почвы, что определяет сдвиг биологической активности. Поэтому даже в контрольных мешочках с крупными ячейками скорость потери массы возможно выше, чем в естественных условиях. Уменьшение диаметра ячеей в опытных сетках ведет к задержке влаги, активизации микробиальной и зоотической активности и изменению общего хода биологической деструкции.

Определение скорости разложения клетчатки в почве. В мешочки из нейлоновой сетки можно закладывать чистую целлюлозу вместо растительного опада. Скорость ее разложения в разных частях почвенного профиля, в разные сезоны или в разных типах почв может дать материал для сравнения пространственно-временной динамики процессов минерализации в почве. Использование сеток с разным диаметром ячеей, куда закладывают стандартный целлюлозный субстрат, позволяет сравнивать скорость его разложения при участии всего комплекса разрушителей либо при частичном или полном исключении животных. Этот метод представляет

модификацию известного метода определения биологической активности с закладкой в почву длинных полос льняной ткани, натянутой на стекло (Петрова, 1963). Заметная потеря массы целлюлозного субстрата регистрируется уже через три—четыре недели. В качестве целлюлозного субстрата используют льняную или хлопчатобумажную ткань (Петрова, 1963), ватман, фильтровальную бумагу (Törne, 1966; Coleman, Sasson, 1980), целлофан (Кислицина, 1968).

Полосы целлюлозного материала закладывают в сетки с разным диаметром ячеек и помещают в почву. Скорость разложения клетчатки в мешочках в разные месяцы составляла 0,04—0,14 г/г/мес (Колорадо, США) (Coleman, Sasson, 1980).

Определения скорости разложения клетчатки по потере массы дают несколько заниженные результаты. Неразложившийся субстрат в конце опыта пронизан гифами грибов и покрыт бактериальными пленками, которые нельзя удалить промыванием. Однако с учетом этого недостатка метод можно применять для сравнения целлюлозолитической активности почвы в присутствии животных или без них.

Определение скорости выделения углекислоты. Скорость выделения CO_2 из почвы и подстилки — показатель суммарного дыхания животных, микроорганизмов и корней. В литературе имеются описания различных методов измерения потока CO_2 из почвы и разлагающихся растительных остатков. В настоящее время интенсивность выделения CO_2 определяют с помощью газоанализаторов разных систем путем определения скорости потребления кислорода манометрическим методом Варбурга с последующим пересчетом на углекислоту. В полевых условиях чаще используют разные модификации метода, в которых выделяющаяся углекислота поглощается щелочью (Звягинцев и др., 1980).

Ниже приводится описание техники полевых определений скорости выделения CO_2 из маленьких проб почвы и подстилки (Kitazawa, 1977). Пробу весом в 1—2 г помещают в открытый контейнер (рис. 39, В), который закладывают в боковую часть пластикового цилиндрического сосуда (рис. 39, А, Б). В центре его находится чашка с раствором щелочи (0,1 н. раствор NaOH). Аппарат плотно закрывается крышкой. Через 2 сут раствор щелочи оттитровывают 0,05—0,1 н. H_2SO_4 по фенолфталеину. Рассчитывают количество выделив-

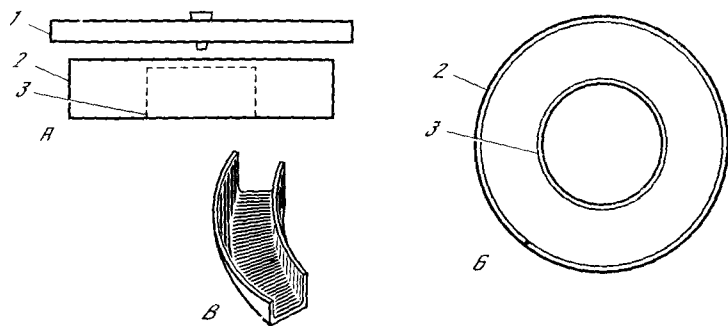


Рис. 39. Прибор для определения потока CO_2 из почвы и подстилки
 А — вид сбоку (схема); Б — проекция сверху; В — контейнер для пробы.
 1 — крышка ($d=8$ см); 2 — внешний пластиковый сосуд ($d=7$ см); 3 — внутренний сосуд для раствора щелочи ($d=3$ см)

шегося и поглощенного щелочью CO_2 по разнице концентрации NaOH в контрольном (пустой контейнер) и опытных аппаратах.

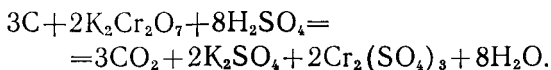
Показатель интенсивности дыхания можно использовать при сравнении процессов деструкции в пробах растительных остатков, частично или полностью изолированных от животных, и в контроле, где представлены все группы сапрофильного комплекса. Участие отдельных видов и групп организмов в потоке энергии определяют путем измерения их дыхания при изоляции из разлагающегося материала и пересчета на данные численности и биомассы (Гиляров и др., 1974).

Определение соотношения С : N. Этот признак косвенно характеризует степень разложения и гумификации растительных остатков. У живых растений величина С : N к концу жизненного цикла расширяется в связи с увеличением содержания компонентов, устойчивых к разложению. Содержание азота в увядающих растениях и растительных остатках, как правило, низкое, и это лимитирует микробную активность и скорость деструкции отмерших тканей. По мере разложения лигно-целлюлозного комплекса, а также накопления продуктов азотного обмена, связанных с продуктами разложения растительного материала, величина С : N сужается. Это свидетельствует о развитии процессов гумификации.

Содержание органического углерода и общего азота в опаде, органическом детрите и экскрементах живот-

ных определяют теми же методами, что и в почвенных пробах. Ниже даны описания тех модификаций методов, которые пригодны для анализа малых навесок органического материала и наиболее экономичны в смысле затрат времени.

1. Определение органического углерода. Содержание углерода определяют методом мокрого сжигания, основанным на окислении органического вещества серно-хромовой смесью (Аринушкина, 1962; Орлов и др., 1969; Пономарева, Плотникова, 1980). Содержание углерода рассчитывают по количеству раствора бихромата калия, затраченного на окисление пробы. Реакция окисления описывается следующим уравнением:



Объем пробы зависит от содержания органического вещества. Для перегноя, опада и экскрементов достаточно навеска в 50–100 мг. Перед анализом материал высушивают до абсолютно-сухой массы, растирают в фарфоровой или яшмовой ступке и просеивают через сито с диаметром отверстий 0,25 мм. Навеску помещают в сухую коническую колбу объемом 100 мл и заливают 10 мл серно-хромовой смеси¹. Содержимое колбы перемешивают, закрывают воронкой или пробкой-холодильником и нагревают на электроплитке с закрытой спиралью или на песчаной бане. Раствор кипятят ровно 5 мин, начиная от первого пузырька. После охлаждения содержимое колбы разбавляют 10 мл воды.

Во время кипения оранжевая окраска раствора переходит в буро-коричневую. Появление зеленой окраски означает, что хромовая кислота полностью израсходована. При этом определение нужно повторить, либо уменьшив навеску пробы, либо увеличив количество окислителя.

Остаток хромовой кислоты в колбе, где проводят мокрое сжигание, определяют титрованием солью Мора или спектрофотометрическим методом. Одновременно

¹ Приготовление серно-хромовой смеси: 40 г $K_2Cr_2O_7$ растирают в ступке, растворяют в 500–600 мл дистиллированной воды (с подогреванием), фильтруют через бумажный фильтр в мерную колбу емкостью 1 л. Раствор доводят до метки водой, переливают в большую колбу и (под тягой!) добавляют туда при осторожном помешивании 1 л концентрированной H_2SO_4 (уд. вес 1,84). Раствор хранят в темном месте.

по той же схеме проводят холостое определение, в котором вместо органического субстрата в колбу кладут немзу или прокаленную в муфельной печи почву. Этот раствор служит контролем при расчетах содержания С и при спектрофотометрическом определении концентрации оставшегося бихромата.

Титрование избытка серно-хромовой смеси. Титрование проводят 0,2 н раствором соли Мора ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot \text{FeSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) по фенилантраниловой кислоте. В колбу с окисленной пробой добавляют несколько капель 0,2% раствора фенилантраниловой кислоты, отчего смесь приобретает вишнево-красный цвет. При добавлении раствора соли Мора окраска раствора меняется через фиолетовую до темно-зеленой.

Раствор соли Мора быстро окисляется кислородом воздуха. Его концентрацию надо проверять титрованием перманганатом калия¹. Содержание органического углерода вычисляют по формуле

$$C = \frac{(a_1 - a_2) \cdot n \cdot 0,003}{2W} 100 \%,$$

где a_1 — количество соли Мора, затраченное на титрование холостого опыта; a_2 — количество соли Мора, затраченное на титрование опытной смеси; n — нормальность раствора соли Мора; W — сухой вес пробы (в г); 0,003 — граммовое значение миллиграмм-эквивалента углерода.

Определение избытка серно-хромовой смеси спектрофотометрическим методом. В сухой колбе объемом 100 мл навеску пробы заливают 20 мл серно-хромовой смеси, кипятят 5 мин и охлаждают (как указано выше). Затем объем смеси доводят водой до 100 мл в мерном цилиндре, перемешивают и оставляют на ночь отстаиваться. Отстоявшийся раствор сливают в кювету спектрофотометра и измеряют оптическую плотность раствора при длине волны 590 мкм. Контролем служит раствор в холостом опыте.

¹ Проверка титра соли Мора: в колбу наливают 10 мл раствора соли Мора, 50 мл воды и 1 мл концентрированной H_2SO_4 . Титруют 0,1н или 0,05н раствором KMnO_4 (из фиксаля) до слабо-розовой окраски, не исчезающей в течение 1 мин. Нормальность раствора соли Мора (n_1) определяют по формуле: $n_1 = n_2 V_2 / V_1$, где V_1 — объем раствора соли Мора; n_2 — нормальность раствора KMnO_4 ; V_2 — объем KMnO_4 , затраченного на титрование.

Расчет содержания органического углерода (в %) ведут по формуле

$$C = \frac{0,3D}{\epsilon l w},$$

где D — оптическая плотность; ϵl — коэффициент погашения; l — толщина кюветы; w — навеска пробы.

Коэффициент погашения при длине волны 590 мкм составляет 0,06983 мг-экв $^{-1} \cdot \text{см}^{-1} \cdot 100$ мл (Орлов и др., 1969). При толщине кюветы в 1 см расчетная формула будет иметь вид $C = 0,3D/0,06983\%$. Расчет содержания органического углерода можно также вести по калибровочной кривой, построенной по глюкозе.

По количеству органического углерода в пробах растительных остатков можно условно вычислить содержание гумуса. И. В. Тюриным был предложен для этого коэффициент 1,724 из расчета, что гуминовые кислоты содержат до 58% углерода. Однако более поздние исследования показали, что в фульвокислотах содержание углерода ниже 50%, поэтому коэффициент перевода углерода в гумус рекомендуется увеличить до 2,0 (Пономарева, Плотникова, 1980).

2. Определение общего азота. Содержание общего азота в опаде, детрите и экскрементах животных чаще всего определяют по методу Кьельдаля, имеющему различные модификации, адаптированные к пробам разного объема и веса. Для маленьких проб рекомендуются полумикромодификация метода Кьельдаля (Аринушина, 1962) и микрохромовый метод Тюрина. Ниже приводится описание микрохромового метода (Пономарева, Плотникова, 1980).

Высушенную, растертую и просеянную через мелкое сито пробу (навеска 50–200 мг) помещают в коническую колбу объемом в 100 мл, приливают 2,5 мл 10%-ного раствора $K_2Cr_2O_7$ и 5 мл концентрированной H_2SO_4 . Содержимое колбы осторожно перемешивают. Затем ее закрывают пробкой-холодильником и кипятят на электроплитке с закрытой спиралью не менее 10 мин до явного позеленения жидкости. Если позеленение наблюдается до кипячения, то нужно повторить определение, либо уменьшив навеску пробы, либо увеличив количество окислителя. После сжигания колбу охлаждают, доливают дистиллированной водой до 100 мл, обмывая стенки колбы и пробку. Затем проводят отгонку аммиака. Жидкость переливают в перегонную кол-

бу; добавляют туда прокаленной пемзы для равномерного кипения и, держа колбу в наклонном положении, приливают по стенке 20 мл 50%-ного раствора NaOH. При изменении количества окислителя следует помнить, что объем щелочи должен быть в 4 раза больше, чем объем H₂SO₄. Колбу присоединяют к аппарату для отгонки аммиака. В колбу-приемник наливают 10–15 мл 0,2 н. раствора H₂SO₄. Кончик трубки должен быть опущен в раствор кислоты. Отгонку ведут 10–15 мин. После этого свободную H₂SO₄ титруют 0,01–0,02 раствором NaOH в присутствии индикатора Гроака или метиленового красного до изменения красно-фиолетовой окраски в зеленую. Одновременно проводят холостое определение на чистоту реактивов.

Содержание азота (N) определяют по следующей формуле:

$$N = \frac{(a n_1 - b n_2) 0,014}{W} 100\%,$$

где *a* — количество H₂SO₄ в приемнике; *b* — количество щелочи, истраченной на титрование; *n*₁ — нормальность кислоты; *n*₂ — нормальность щелочи; *W* — сухая масса пробы; 0,014 — количество азота (в г), соответствующее количеству связанного аммиака (в мг-экв).

Определение сухой массы и зольности растительных остатков. В полевых и лабораторных исследованиях мертвых растительных тканей и экскрементов животных важным показателем служит сухой вес этого органического материала. Это — масса полностью обезвоженных растительных остатков. В биологических исследованиях применяются разные способы высушивания материала: в эксикаторах, в сушильном шкафу, под вакуумом, лиофильная сушка и т. д. При анализах почв, как правило, применяется высушивание образцов в сушильном шкафу при температуре 100–105° С до постоянного веса. В практике почвенно-зоологических исследований также чаще всего используется высушивание материала в сушильном шкафу. Разные авторы рекомендуют сушку при различных температурах — 50–60 или 100–105°. Известно, что при высушивании биологического материала при разных температурах сухой вес его несколько различается. Однако эти различия несущественны и ими можно пренебречь. Можно рекомендовать сушку растительных остатков при высоких температу-

рах — до 105°. Постоянный вес материала достигается при этом за 2—3 ч.

В большинстве случаев почвенные зоологи имеют дело при химических анализах с небольшими навесками материала — в несколько граммов или даже до грамма. Здесь большое значение имеет точность взвешивания. Растительные остатки при изоляции их в нейлоновых сетках, а также материал, полученный в лабораторных условиях, следует взвешивать на аналитических весах. Точность определения должна быть не ниже $\pm 1\%$.

Количество золы в растительном опаде, корнях и экскрементах животных зависит от длительности их пребывания в почве, от погодных условий, влияющих на активность микроорганизмов и животных и, наконец, от характера процессов разложения, свойственного различным природным зонам. Все эти факторы следует учитывать при сравнении зольности растительных остатков, определенной различными исследованиями в разных районах.

Для определения золы в растительных остатках, как и в других биологических объектах, чаще всего используется метод прокаливания в муфельной печи. При этом большое значение имеет температура, при которой ведется прокаливание пробы. При высокой температуре некоторые соли, входящие в состав минеральной фракции растительных остатков, разлагаются с выделением газообразных продуктов, что приводит к значительной потере веса золы. Например, при температуре свыше 600° разлагаются карбонаты с выделением углекислоты. Поэтому рекомендуется проводить прокаливание проб в муфельной печи при температуре 500—550°. Следует учитывать, что внутри печи температурный градиент достигает 50°. Поэтому тигли с пробами следует ставить компактно в средней части печи на равном расстоянии от передней и задней стенок. Рекомендуется использовать печи марок № 1, 3 и МП-1 для прокаливания растительных остатков.

Прокаливание проводят в фарфоровых тиглях, куда закладывают 0,5—1,0 г размельченных растительных остатков, пропущенных через почвенное сито с диаметром отверстий 0,25 мм. Наиболее употребительны тигли № 5 и 6.

Тигли с навеской ставят в холодную муфельную печь, включают электрический ток и нагревают до 500°. При

этой температуре материал прокаливают в течение часа, затем выключают ток, дают печи охладиться до чуть теплого состояния и вынимают тигли. Тигли ставят в эксикатор, и там материал охлаждается до комнатной температуры. Через 30 мин можно взвешивать прокаленный материал. Прокаленные растительные остатки очень гигроскопичны. Поэтому тигли должны все время находиться в эксикаторе, а взвешивание следует проводить очень быстро.

Затем растительные остатки прокаливают вторично в течение 10—20 мин. При этом надо строго соблюдать температурный режим муфельной печи и процедуру прокаливания и охлаждения материала в эксикаторе.

Вычисляют процентное содержание золы в отношении к воздушно-сухой массе растительного материала.

Определение содержания полифенолов и лигнина (по Кингу и Хису). Содержание полифенолов и структурных элементов растительных тканей (лигнин и клетчатка) во многом определяет темпы их разложения животными. Только что опавшие листья с высокой концентрацией соединений полифенольного ряда являются несъедобными для многих видов сапрофагов. Животные, если и заглатывают ткани только что опавших листьев, то почти не переваривают их. Лишь после выщелачивания значительной части полифенолов животные начинают потреблять и усваивать растительные ткани. Структурные свойства листы влияют на скорость ее потребления. Листья с высоким содержанием лигнина и клетчатки часто медленнее поедаются животными, хотя их усвояемость оказывается часто не ниже в сравнении с легко разрушаемыми видами опада. Для оценки питательных свойств листового опада имеет большое значение количественное определение содержания полифенолов, лигнина и клетчатки.

Ниже приводится описание метода определения концентрации полифенолов и лигнина в маленьких навесках растительных остатков (King, Heath, 1967). 200—500 мг воздушно-сухого опада, размельченного в ступке и просеянного через сито с отверстиями диаметром 0,2 мм, экстрагируют 10 мл петролейного эфира в закрытой колбе в течение суток. Затем экстракт фильтруют через бумажный фильтр, промывают небольшими порциями эфира. Фильтрат испаряют в струе воздуха, высушивают в вакууме и осадок взвешивают.

После экстракции петролейным эфиром осадок высушивают до воздушно-сухого состояния и затем экстрагируют 10 мл 50%-ного водного раствора метанола. Экстракцию проводят в закрытой колбе в течение суток, а затем экстракт отфильтровывают от осадка на бумажном фильтре в мерную колбу емкостью 100 мл. Осадок промывают водой и метанолом так, чтобы в мерной колбе в конце процедуры оказалось бы не более 15 мл метанола. При промывании из осадка удаляются остатки сахаров и полифенолов. Экстракт доводят водой до 100 мл.

В растительных тканях содержится сложная смесь полифенолов, которую трудно разделить. Поэтому предлагается метод определения относительной редуцирующей способности экстрагированных полифенолов с помощью реактива Фолина—Дени.

5 мл реактива Фолина приливают к определенному количеству метанольного экстракта в мерной колбе на 100 мл. Через 3 мин туда добавляют 10 мл насыщенного раствора соды и доводят объем до 100 мл водой. Раствор взбалтывают в течение часа, фильтруют, если это необходимо, и определяют его оптическую плотность при длине волны 725 мкм в кювете толщиной 1 см в сравнении с холостым опытом. Содержание полифенолов выражается значением разницы оптической плотности опытного и холостого раствора, помноженной на 10^{-3} и отнесенной к воздушно-сухому беззольному весу.

Содержание лигнина определяют в осадке, оставшемся после экстракции петролейным эфиром и метанолом. К воздушно-сухому материалу приливают 15 мл 72%-ной серной кислоты. Смесь взбалтывают в течение 2 ч, а затем разводят ее в 100 мл воды и переносят в коническую колбу емкостью 750 мл. Колбу нагревают на кипящей водяной бане в течение 4 ч, а затем лигнин отфильтровывают на фильтре Нуча № 3. Лигнин промывают горячей водой, этанолом и эфиром, высушивают при 105°C и взвешивают. После этого определяют вес золы. Содержание лигнина рассчитывают на беззольное сухое вещество.

Определение содержания клетчатки. При характеристике пищевой активности различных сапрофагов важным показателем является их способность разлагать клетчатку. Моллюски, диплоподы, мокрицы, личинки двукрылых, энхитренды известны как активные разрушители целлюлозы.

Содержание клетчатки определяют по количеству моносахаридов, образующихся при гидролизе клетчатки в концентрированной серной кислоте. Модификация этого известного метода применительно к малым навескам мертвых растительных тканей и экскрементов разработана Б. Р. Стригановой (1970).

Для определения используется материал, высушенный до постоянного веса, размельченный и просеянный через сито с диаметром отверстий 0,25 мм. Пробу весом 10–20 мг помещают в химическую пробирку и заливают 2 мл 80%-ной серной кислоты. Смесь тщательно размешивают стеклянной палочкой и оставляют на 1,5 ч для полного растворения клетчатки в кислоте. Затем смесь переносят в колбу и доливают туда около 100 мл воды. Колбу ставят в кипящую водяную баню на 2 ч, в течение которых происходит полный гидролиз клетчатки. После этого смесь охлаждают и центрифугируют в течение 15 мин при 3 тыс. об/мин. Центрифугат доводят водой в мерной колбе до 100 мл и определяют в нем содержание глюкозы с помощью антронового реактива.

Состав антронового реактива: 200 мг антрона, 8 мл абсолютного этилового спирта, 30 мл дистиллированной воды и 100 мл концентрированной серной кислоты (уд. вес 1,94).

В химическую пробирку помещают 1 мл центрифугата и 10 мл антронового реактива. Содержимое пробирок перемешивают и нагревают на водяной бане в течение 7 мин. После этого пробирки сразу же охлаждают и их содержимое фотометрируют при длине волны 620 мкмк. Концентрация глюкозы определяется по калибровочной кривой.

В растительных остатках всегда имеется некоторое количество моносахаридов и дисахаридов. Для определения исходного их содержания в исследуемом материале навеску 10–15 мг суспензируют в 10 мл дистиллированной воды, нагретой до 50°, в течение 10 мин. Затем смесь фильтруют и определяют в фильтрате содержание глюкозы антроновым методом.

При определении глюкозы, образующейся в результате гидролиза клетчатки, следует вычесть из общего количества глюкозы в первом гидролизованном растворе исходное количество глюкозы, рассчитанное на единицу сухого веса материала.

Содержание клетчатки (Ц), по расчету А. Р. Кизеля (цит. по: Иванов, 1964), составляет 0,9 от количеств

ва глюкозы (Г), $G : C = 0,9$. Для сравнения содержания клетчатки в разных видах растительного опада ее количество выражают в процентах от воздушно-сухого веса. Для каждого варианта опыта необходимо определение содержания клетчатки не менее чем в пяти повторностях (Стриганова, 1975).

Определение содержания гуминовых соединений.

В почвенно-экологических исследованиях для определения концентрации гуминовых веществ широко используется метод Кульманна и Фрейтага (Kullman, Freitag, 1957). Этим методом определяется оптическая плотность экстрактов гуминовых веществ при разных длинах волн, а также отдельно оптическая плотность раствора гуминовых кислот и фульвокислот.

200 мг тонкоизмельченного растительного материала, высушенного до постоянного веса, заливают 40 мл 0,50%-ного раствора едкого натра. Экстракция проводится при комнатной температуре в течение 1,5 ч. После фильтрования через стеклянный фильтр (№ 3) объем раствора доводят щелочью до 50 мл в мерной колбе и определяют в нем оптическую плотность экстракта гуматов.

Следующий этап анализа — разделение экстракта на фракции гуминовых кислот и фульвокислот. К экстракту добавляют концентрированную серную кислоту по каплям, пока рН не достигнет 2. При этом происходит осаждение гуминовых кислот. Раствор, в котором остаются фульвокислоты, отделяют от осадка на центрифуге при 5 тыс. об/мин в течение 15 мин. В центрифугате определяют оптическую плотность фульвокислот. Осадок гуминовых кислот снова растворяют в едком натре, но перед определением его оптической плотности на спектрофотометре этот раствор следует очистить от остатков фульвокислот. Для этого в раствор снова добавляют по каплям серную кислоту и снова отделяют осадок центрифугированием. Эту операцию повторяют 2—3 раза, пока центрифугат не станет совсем светлым. После этого окончательно растворяют гуминовые кислоты в щелочи, доводят объем раствора до 50 мл и определяют его оптическую плотность.

Кривые поглощения экстрактов гуматов в видимой части спектра можно получить на таких приборах, как спектрофотометры СФ-2М, СФ-4, фотоэлектроколориметр ФЭК-57. Для получения спектра берут две кюветы, одна из которых заполнена исследуемым окрашенным

раствором, а другая — растворителем. Так как в данном случае растворитель — раствор щелочи, такой же прозрачный в видимой части спектра, как вода, для второй контрольной кюветы можно использовать дистиллированную воду.

При измерениях наиболее точные показания получаются в средней части спектра при оптической плотности между 0,8 и 1,3. Это нужно учитывать при подборе кювет. Чем толще слой раствора в кювете, тем выше его оптическая плотность. После нескольких пробных измерений нужно использовать кюветы такого объема, чтобы оптическая плотность оказалась не ниже 0,8 и не выше 1,3. Вместе с тем нужно стремиться выбрать кювету наименьшего размера из возможных: при малой толщине поглощающего слоя (кюветы длиной 0,5—1,0 см) ошибки от рассеивания света оказываются минимальными.

Измерения оптической плотности проводят при нескольких длинах волн, например при 465, 533, 619, 665, 720 мкм (либо 400, 450, 500, 550, 600, 700, 750 мкм). В коротковолновой части спектра коэффициенты поглощения света резко уменьшаются. Наглядная сравнительная характеристика гуматов в различных растительных остатках, например в опале и экскрементах животных, получается при графическом изображении этих кривых. На полулогарифмической бумаге строят графики по координатам: логарифм коэффициента поглощения света (D) — длина волны (l). Положение этих кривых и крутизна падения оптической плотности при уменьшении длины волны дают представление о концентрации и составе гуматов в исследуемых субстратах.

Для количественного определения содержания гуматов разработан ряд расчетных методов, из которых наиболее простым и употребительным является метод Вельте (Welte, 1956). По методу Вельте соотносятся оптические плотности растворов, измеренные при длинах волн 472 и 665 мкм. Концентрация гуматов определяется по формуле

$$C = mlD_{472} - nID_{665},$$

где C — концентрация гуматов; l — толщина кюветы; D_{472} и D_{665} — оптические плотности растворов при соответствующих длинах волн, а m и n — коэффициенты, экспериментально найденные Вельте для бурых и серых гуминовых кислот: $m=79,9$, $n=103$.

В результате формула Вельте приобретает следующий вид:

$$C = 79,9 \cdot ID_{472} - 103 \cdot ID_{665}.$$

C , рассчитанное по этой формуле, соответствует количеству миллиграммов гуминовых кислот в 100 мл раствора.

ГЛАВА 4

Методы определения термо-, гигро- и гидропреферендумов почвенных беспозвоночных

Большое значение в распределении беспозвоночных имеет степень приспособленности их к определенному комплексу экологических факторов. Она определяет чувствительность к кратковременным и длительным, периодическим и необратимым изменениям климатических и биотических факторов. Каждый вид животных выбирает из всех доступных частей экотопа именно ту зону, в которой комплекс условий наиболее приближается к оптимуму. В силу этого большинство животных практически находится в гораздо более постоянных условиях температуры и влажности, нежели это могло бы показаться при сравнении гидротермических режимов почв в местообитаниях одного вида (Беклемишев, 1934; Чернов, 1975). Сезонные, горизонтальные и вертикальные миграции, суточные перемещения беспозвоночных, смена биотопов стимулируются влиянием температуры и влажности и позволяют животным находить более пригодные и стабильные условия обитания.

Изучение приуроченности отдельных видов животных к разным биотопам и их миграции в природе, выяснение влияния гидротермических факторов на характер пространственного распределения беспозвоночных привели к экспериментальному изучению преференции конкретных видов.

Выяснение отношений животных к температуре и влажности проводится в двух аспектах. С одной стороны, изучается поведение особи определенного вида животного в приборах с градиентом температуры и влажности и выделяется предпочитаемая зона. С другой стороны, проверяется устойчивость (термо- и гигропрези-

стентность) различных видов беспозвоночных к тем или иным условиям температуры и влажности, при этом подсчитывается процент отмерших особей при разной временной экспозиции.

Впервые температурную преференцию изучал Мендельсон (Mendelson, 1895) у парамедий. Затем Мартини (Martini, 1918) сконструировал термоградиент — прибор для изучения насекомых, в котором дно линейной камеры представляет собой медную пластину, подогреваемую посредине и охлаждаемую по концам. Позднее были предложены и опробованы более сложные установки того же типа. Чаще всего применяли, а иногда и сейчас используют линейный прямоугольный аппарат (термоград), предложенный Гертером (Herter, 1924, 1934) (рис. 40). Дно камеры металлическое, засыпанное сырым песком или без него. Описания и рисунки нескольких подобных термоградиентов приведены И. В. Кожанчиковым (1961).

Однако большинство установок малоприспособно для изучения почвенных беспозвоночных. Один из основных недостатков этих приборов — сложность поддержания равномерной влажности воздуха внутри камеры: при градиенте температуры обязательно возникает градиент влажности воздуха (Deal, 1941). Тиле (Thiele, 1964) отмечает, что при градиенте температуры 5–40° в аппарате Гертера без субстрата градиент влажности равен 30–80%. Это часто приводило к искажению результатов определений термопреферендума беспозвоночных: влаголюбивые виды животных концентрировались на холодном конце, где влажность выше (Deal, 1941; Palmen, 1954). Нишульц (Nieschulz, 1933) предлагает регулировать влажность внутри камеры, помещая чашки с поглотителями (например, хлористым кальцием) в холодном конце и со смоченной ватой — в теплом. Другие авторы (Gunn, 1933; Зенякин, 1947) для поддержания влажности внутри камеры вводили протяжку воздуха через камеру с установленной влажностью. Большинство исследователей выстилали опытный канал фильтровальной бумагой (Agrell, 1941; Thiele, 1964) или проводили опыты на влажном песке (Gromysz-Kalkowska, 1967, 1970a). Но и в этих опытах градиент влажности воздуха оставался равным (60–80%).

Кроме того, все эти приборы обладают еще одним существенным недостатком. Многие исследуемые в них животные, обитая в естественных условиях — в порах

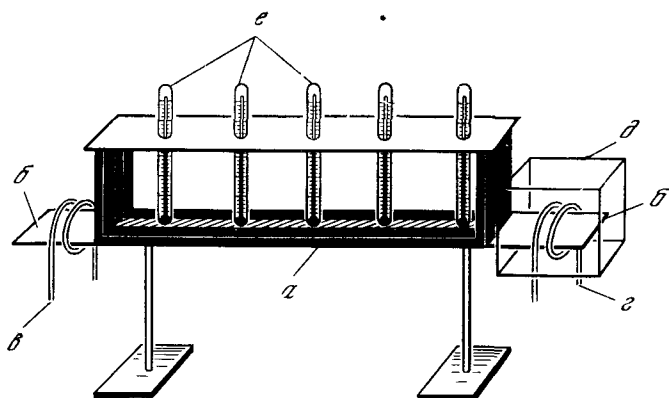


Рис. 40. Термоград Гертера (Herter, 1934)

- а* — опытный канал,
- б* — металлическая пластина, дно камеры;
- в* — нагревательный элемент,
- г* — охлаждающий змеевик,
- д* — бак с водой;
- е* — термометры

Рис. 41. Термоград Крюгера (Krüger, 1952), вид сверху

- а* — металлическое дно камеры;
- б* — отверстия в стекле для термометров;
- в₁* — нагревательный,
- в₂* — охлаждающий элементы

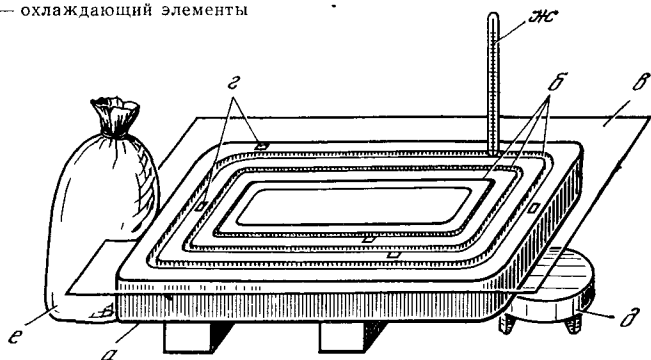
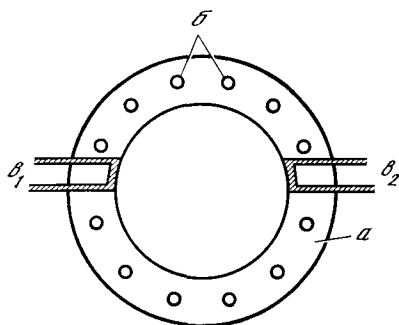


Рис. 42. Термоград С. И. Тихомирова и А. Л. Тихомировой (1972)
а — гипсовая плита; *б* — экспериментальные каналы; *в* — стекло; *г* — отверстия в стекле для термометров, заткнутые пробкой; *д* — электрическая плитка или нагревающая спираль, встроенная в плиту; *е* — полиэтиленовый мешок с охлаждающей смесью; *ж* — термометр

и норах почвы или других убежищах, обладают ярко выраженной реакцией положительного стереотропизма, или «эффекта конца» (Калабухов, 1950, 1951; Krüger, 1952). Это явление заключается в том, что животное, двигаясь по прибору и встретив преграду (конец трубки или камеры), не уходит обратно, а останавливается возле преграды, даже если температура среды в этом месте неблагоприятна. В связи с этим был предложен кольцеобразный градиент-прибор, не имеющий замкнутых концов-убежищ (рис. 41).

С. И. Тихомировым и А. Л. Тихомировой (1972) предложен тип термоградиент-прибора для почвенных беспозвоночных, лишенный многих из указанных недостатков. Он представляет собой цементную или гипсовую плиту с концентрическими желобами эллипсоидной формы: размеры плиты и каналов зависят от размеров животных (рис. 42). Плита накрыта стеклом с отверстиями для измерения температуры. С одной стороны к опоре ниже плиты прикреплен электронагревательный элемент, противоположный конец плиты охлаждается полиэтиленовым мешком, наполненным охлаждающей смесью или встроенным в плиту холодильным устройством. Основное преимущество цементных и гипсовых каналов перед металлическими заключается в их гигроскопичности. Перед началом опыта плита увлажняется и вода без остатка впитывается в цемент или гипс. Испаряясь со всех сторон в канал, она поддерживает насыщенную влажность воздуха независимо от температуры данного участка плиты. При этом способе в термоградиент-приборе отсутствует градиент влажности. Гипс легче поддается обработке, поэтому его удобнее использовать в опытах.

При исследовании беспозвоночных, обладающих высоким тигмокинезисом, использовались градиент-приборы, заполненные одинаково увлажненным субстратом. Животные в этих опытах распределены внутри субстрата. Для личинок Diptera в качестве субстрата использован навоз (Thomsen E., Thomsen M., 1937), для личинок Elateridae — песок (Fulton, 1928; Campbell, 1937), для Lumbricidae — почва (El-Duweini, Ghabbour, 1965; Madge, 1969; Reinecke, 1975), для *Pachymerium ferrugineum* (Geophilidae) — опилки (Palmen, Rantala, 1954). К сожалению, в этих приборах невозможно было вести непосредственные наблюдения за животными.

Во многих работах по термопреферендумам парал-

дельно исследуется устойчивость к различным температурам (терморезистентность). Опыты по терморезистентности проводят в термостате, установленном на определенную температуру. Эксперименты обычно проводят при температурах, близких к верхнему температурному пределу этих животных, например для *Oribatei* 35 и 40° (Madge, 1965). Животных помещали в герметично закрывающийся сосуд, в котором поддерживали определенную относительную влажность воздуха, часто 100%. Через определенные промежутки времени сосуды извлекали из термостата и определяли процент погибших особей при данной экспозиции. Полученные значения терморезистентности, так же как и термопреферендума, хорошо коррелируют с условиями местобитаний соответствующих видов животных и помогают объяснить их поведение.

О влиянии фактора влажности на беспозвоночных обычно судят по их влаголюбивости — приуроченности к биотопам с различным увлажнением. Однако этот «метод экологического профиля» (Кожанчиков, 1958) в силу мозаичной изменчивости условий внутри биотопа и большой подвижности многих беспозвоночных до конца не дает ответа на вопрос об их требованиях к условиям влажности. Поэтому неоднократно делались попытки более строгой оценки отношения беспозвоночных к влажности с помощью лабораторных опытов.

Реакция наземных и почвенных беспозвоночных на влажность экспериментально исследована Шелфордом (Shelford, 1913). Аппарат, который применялся в его опытах, представляет собой прямоугольный садок, боковые стенки которого сделаны из сетки. Три параллельных потока воздуха с разной относительной влажностью, температурой и скоростью движения продувались через боковые стенки. Этот тип прибора не нашел широкого применения, так как движение воздуха часто само является фактором, влияющим на характер распределения и поведение животных (Neccheles, 1924). Аппарат был применен Гамильтоном (Hamilton, 1917) для личинок и жуков-жужелиц и Хембургером (Heimbürger, 1924) — для дождевых червей.

Предложен ряд других типов приборов для изучения влияния влажности воздуха на поведение беспозвоночных (Gunn, Kennedy, 1936; Agrell, 1941; Gösswald, 1941; Lipkow, 1966; Тихомирова, 1968). Градиент влажности в этих приборах создавался над растворами солей, щело-

чей или кислот различной концентрации, поглощающими водяные пары, и чистой водой. Над растворами натягивали металлическую сетку или мельничный газ, по которым передвигались беспозвоночные. Прибор обязательно закрыт крышкой (из стекла или другого прозрачного материала), причем зазор между крышкой и сеткой должен быть минимальным для быстроты установления постоянной влажности.

У Ганна и Кеннеди (Gunn, Kennedy, 1936) описан круговой градиент-прибор. Для поддержания постоянной влажности и ликвидации конвекции авторы советуют наклонять прибор на 2–3°, причем сухой конец должен быть ниже. В несколько измененном и упрощенном виде этот прибор использовался многими авторами (Barlow, 1957; Thiele, 1964; Lipkow, 1966; Тихомирова, 1968). Установка состоит из двух частей (рис. 43). Верхняя съемная ее часть представляет собой стекло с наклеенными на него двумя концентрическими кольцами из пластилина, резины либо из другого какого-нибудь материала. Кольцевой зазор делают такой ширины и глубины, чтобы по нему могли свободно передвигаться исследуемые животные. Снизу канал закрывают мельничным газом или цинковой сеткой. Число концентрических каналов может быть различным (Тихомирова, 1968). Нижняя часть установки представляет собой круглую ванну, разделенную радиальными перегородками на четное число камер. Иногда в разные концы нижней ванны помещаются всего две чашки — одна с сильным поглотителем, другая с дистиллированной водой. В первом варианте в камерах симметрично размещены растворы, создающие довольно быстро (15–20 мин) над собой градиент влажности воздуха от 0 до 100% (величина этого градиента выбирается исследователем). Во втором варианте в камере также создается градиент, но гораздо медленнее — через 16 ч (Gunn, Kennedy, 1936). Для животных очень активных или собирающихся в агрегации желательнее ставить внутри канала перфорированные преграды для того, чтобы остановить их «бесконечный» ход по кругу (Barlow, 1957; Thiele, 1964).

Прибор Агрелля — Гёссвальда (Agrell, 1941; Gösswald, 1941) — линейного типа (рис. 44). Обычно применяют следующие реактивы для поддержания определенной влажности воздуха: H_2SO_4 , KOH, NaOH, $CaCl_2$, $ZnCl_2$ и др. (Janisch, 1938).

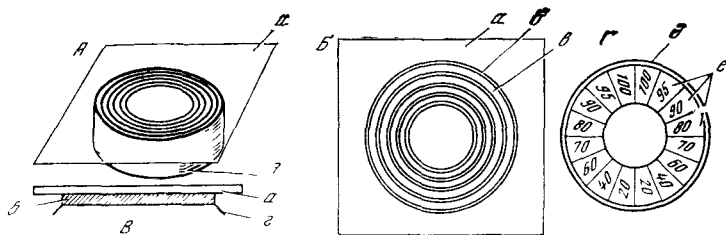


Рис. 43. Установка для изучения гигропреферендума беспозвоночных
 А — общий вид; Б — стекло с пластилиновыми или резиновыми каналами, вид сверху; В — то же, вид сбоку; Г — ванна, разделенная на зоны, заполненные растворами щелочей, кислот, солей, вид сверху а — стекло; б — пластилиновые полосы, в — зазоры между пластилиновыми полосами, служащие экспериментальным пространством, г — мельничный газ, д — ванна, е — камеры с растворами

Подробное описание другого широко применяющегося прибора — альтернативной камеры — имеется в работе Ганна и Кеннеди (Gunn, Kennedy, 1936) (рис. 45). В этой установке вместо того, чтобы предлагать беспозвоночным весь спектр величин влажностей, предлагаются различные пары значений влажности. При помощи этого прибора, меняя жидкости под сеткой и суживая интервал между создаваемыми влажностями, можно определить предпочитаемую влажность. Граница, разделяющая две различные влажности, может быть настолько резкой, насколько это необходимо.

Кроме влияния влажности воздуха на поведение беспозвоночных, изучается влияние влажности субстрата. Это прежде всего относится к типично почвенным группам животных, например личинкам Elateridae (Langebuch, 1932; Lees, 1943b), дождевым червям (Madge, 1969), жукам-жужелицам (Lindroth, 1949), жукам Staphylinidae (Larsen, 1936; Krögerus, 1948; Szujecki, 1965a). Полученные данные хорошо согласуются с наблюдениями в природе над почвенными роющими и скважными формами (Larsen, 1936). Но у герпетобитных, в особенности у прибрежных насекомых, данные лабораторных определений могут существенно расходиться с поведением в природных биотопах (Krögerus, 1948). Это можно объяснить менее тесной связью этих форм с почвой (Гиляров, 1949; Тихомирова, 1968).

Почвенные беспозвоночные очень чувствительны по отношению к недостатку влаги. Приспособление назем-

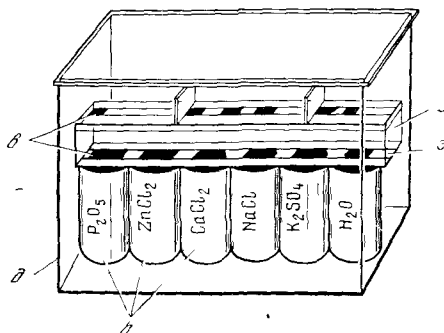


Рис. 44. Линейный прибор Агрелля (Agrell, 1941)

- а — экспериментальная плексигласовая камера
- б — сосуды с растворами солей и водой,
- в — полоски из CoCl_2 для проверки относительной влажности воздуха,
- г — дно камеры: цинковая сетка или мельничный газ,
- д — внешняя плексигласовая коробка длиной 20,5 см, высотой 7,5 см, шириной 4,5 см

ных беспозвоночных к существованию в условиях дефицита влаги является важнейшей проблемой в процессе перехода животных к жизни на суше (Гиляров, 1949, 1970). Поэтому наряду с изучением гигро- и гидропреферендумов для выяснения влияния фактора влажности на жизнь и поведение почвенных животных большое значение имеет изучение их устойчивости к сухости (гигрорезистентности). Гораздо чаще эти исследования про-

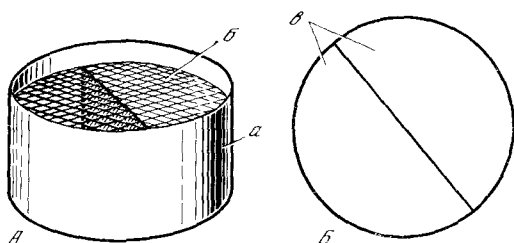


Рис. 45. Альтернативная камера Ганна и Кеннеди (Gunn, Kennedy, 1936) для изучения гигропреферендума

- А — общий вид, Б — схема расположения растворов, вид сверху
- а — ванна
- б — цинковая сетка или мельничный газ
- в — камеры с растворами солей, щелочей, кислот

бодят на малоподвижных и мелких группах, на коллемболах (Agrell, 1941; Mayer, 1957), орибатидях (Riha, 1951). Животных содержат в герметичных камерах над порошком P_2O_5 (нулевая влажность) или растворами щелочей, солей (NaOH , ZnCl_2 и др.), над поверхностью которых устанавливается различная концентрация водяных паров. Через определенные промежутки времени животных извлекают из камер и подсчитывают соотно-

шение живых и мертвых особей. Те концентрации водяного пара, в которых наблюдается максимальная выживаемость, считаются оптимальными для данного вида. В аналогичных опытах при сравнении видов, кроме ингрорезистентности, исследуется скорость потери воды при определенной концентрации водяного пара (Edney, 1951; Nemenz, 1954; Perttunen, 1953).

В литературе имеется много данных о зависимости реакции беспозвоночных в опыте от предварительного воздействия внешних факторов, например зависимости термопреферендума насекомых от температуры, в которой они находились до опыта (Herter, 1925; Bodenheimer, Schenkin, 1928; Мончадский, 1949), от влажности воздуха до опыта. Это связывают с интенсивностью потери влаги и изменением физиологического состояния насекомых (Gunn, Gosway, 1938; Palmén, Suomalainen, 1945). В опытах других авторов — Нишульца (Neischulz, 1933), Л. А. Зенякина (1947) — предварительное воздействие температуры и влажности не приводило к смещению температуры преферендума. Лишь значительные отклонения температуры и влажности от нормы, а также длительное их воздействие приводили к значительному сдвигу преферендума.

Размах этого явления зависит от того, встречается ли вид постоянно в природных местообитаниях с сильными колебаниями гидротермического режима. У беспозвоночных, обитающих в условиях небольших колебаний температуры в лесной подстилке и почве, колебания термопреферендума незначительны (Gromysz-Kalkowska, 1970a; Тихомиров, Тихомирова, 1972).

Для получения более естественной реакции организма на изменение определенного фактора необходимо максимально сократить интенсивность воздействия остальных факторов, важных для животного (Agrell, 1941; Кожанчиков, 1961; Тихомирова, 1973). В этом плане почвенные беспозвоночные представляют собой довольно благоприятный объект, поскольку комплекс постоянно существенно воздействующих на этих животных факторов внешней среды ограничен и может быть с достаточной степенью приближения воспроизведен в лаборатории.

Кроме того, необязательно создавать в эксперименте условия, благоприятные для длительного существования животного, поскольку с течением времени влияющие неучтенные факторы возрастает. Поддержание в

установке условий, приближенных к естественным, необходимо лишь в течение опыта, т. е. несколько часов. В опытах избегают влияния отдельных факторов, устраняют их. Так, отсутствие в приборах солнечного облучения и затемненных мест (опыты проводятся при слабом, рассеянном свете или в темноте с периодической подсветкой) до минимума сводит тяготение животных к укрытию. Отсутствие пищи в период опыта (животных предварительно кормят) почти полностью снимает пищевую активность. Для устранения половой активности и конкуренции А. Л. Тихомирова (1968) советует помещать животных в установке в индивидуальные экспериментальные каналы.

Однако некоторые факторы невозможно исключить даже на короткое время, не вызвав при этом резкого изменения поведения животных. К числу таких факторов в первую очередь относятся температура и влажность воздуха. Изменение любого из этих факторов до известных величин приводит к быстрой гибели животного. Сведение до минимума влияния одного из таких факторов возможно лишь при поддержании его на уровне, близком к оптимуму для данного вида. Так, многие опыты по изучению термопреферендума почвенных животных проводятся при 100%-ной относительной влажности воздуха (или близко к ней), которая является оптимальной для большинства почвенных и скважных форм, поскольку она соответствует условиям их обитания.

Опыты по изучению термопреферендумов, проведенные многими авторами (Palmen, Rantala, 1954; Ликвентов, 1960; Thiele, 1964; Тихомиров, Тихомирова, 1972; и др.), показали, что комнатная температура 18–22° довольно близка к температурному оптимуму многих видов беспозвоночных, поэтому опыты по изучению предпочитаемой влажности ставятся при этих температурах.

В отличие от температуры предпочитаемая влажность в связи с большой зависимостью водного обмена беспозвоночных от влажности воздуха (Buxton, 1932; Mellanby, 1935) смещается в сторону, противоположную направлению предварительного воздействия. Пересушенные беспозвоночные, естественно, будут выбирать более влажные места. Поэтому животные либо прямо перед опытом ловятся в поле, либо содержатся в садках с почвой и лесной подстилкой из места обитания, причем субстрат постоянно смачивают.

В работах Боденхаймера и Шенкина (Bodenheimer, Schenkin, 1928) и А. В. Ликвентова (1960) показано наличие суточных колебаний термопреферендума у наземных и подстилочных насекомых. Термопреферендум периода активности сменяется термопреферендумом периода покоя, но после содержания животных в константных условиях эти различия сглаживаются и приближаются к оптимуму покоя.

Сезонные изменения наблюдаются и в гигро- и в термопреферендумах (Ликвентов, 1949; Perttunen, 1953; Thiele, 1964) даже при содержании животных в постоянных по температуре и влажности лабораторных условиях. Поэтому с представителями разных видов беспозвоночных опыты желательно проводить в одно и то же время и в сжатые сроки (две—четыре недели).

Существуют различные способы помещения животных в опытное пространство. Обычно начинают работать с установкой, в которой температурный градиент или градиент влажности воздуха уже стабилизировался. В опытах по определению термопреферендума животных либо выпускают в области среднего значения температур, либо равномерно распределяют по всему каналу, либо сажают в горячую зону. Однако при работе с малоподвижными формами велика опасность теплового шока в горячей зоне и холодового оцепенения в холодной части прибора. Тепловой шок может наблюдаться и у быстро передвигающихся объектов, если животное испугано незнакомой обстановкой. В опытах по гигро- и гидропреферендумам животных обычно распределяют равномерно по всему каналу, одновременно с началом опыта.

Согласно исследованиям С. И. Тихомирова и А. Л. Тихомировой (1972), беспозвоночных лучше помещать в экспериментальный канал до того, как в установке создан ощутимый градиент температур или влажности. До начала опыта животные могут беспрепятственно обследовать всю доступную им территорию. Изменения начинаются после установления в приборе градиента температуры или влажности. Через 20—30 мин животные успокаиваются и останавливаются в такой-то точке. Представителей крупных хищных видов желательно помещать по одному в каждый канал.

Существует два способа снятия показаний.

1. Через равные интервалы времени подсчитывается количество животных в каждом секторе эксперимен-

тального канала (температура и влажность воздуха в секторах постоянная). В каждом таком опыте используется большое количество животных. Преферендум определяется на основе кривой распределения, которая имеет одну, а иногда две вершины (Agrell, 1941; Thiele, 1964; Стебаева, 1977).

2. Измерение температуры и влажности воздуха в точке канала, где животное находится в состоянии покоя более 1 мин. При снятии показаний животное вспугивается (Gromysz-Kalkowska, 1967, 1970a). По данным других авторов, животное должно находиться в состоянии покоя более 3 мин (Тихомирова, 1973). В опытах по определению гигропреферендума после снятия показания и вспугивания животного верхняя съемная часть прибора поворачивается на 180°. Интервал между измерениями менее постоянен, чем в первом случае.

В каждом опыте исследуется одна или несколько особей одного вида. За истинную величину термо- и гигропреферендума в этом случае принимается среднее значение преферендума, рассчитанное по данным, полученным в момент спокойного состояния животных (но не в холодном или тепловом оцепенении). Зона оптимума у активно двигающегося в приборе животного гораздо шире. Почти всякое проявление локомоторной активности, видимо, указывает на то, что животное испытывает дискомфортность, в противном случае оно находится в покое. Этим объясняется существование двухвершинных кривых зависимости локомоторной активности наземных насекомых от температуры (Deal, 1941; Беклемишев, 1944). Положение максимума активности менее стабильно, чем оптимума покоя (Тихомиров, Тихомирова, 1972), что позволяет многим видам полнее использовать меняющуюся среду обитания.

А. С. Мончадский (1949), доказывая непостоянство температурных потребностей насекомых, описывает как раз смещение температурных границ и максимумов активности.

В опытах А. В. Ликвентова (1960) взрослые особи зерновой жужелицы *Pseudophonus rubescens* из-под Ленинграда в покое (днем) скупивались на участке шкалы термограда 20—29° (причем в одном канале в опытах было 15—20 жужелиц, что и приводило к такому сравнительно широкому разбросу избираемых температур), а в состоянии активности рассеивались в более холодную зону (ночью, 8—25°). Жуки песчаного медляка *Opat-*

gum sabulosum из низовий Волги в состоянии покоя собирались при температурах 7—15°, а будучи активными рассеивались в сторону более высокой температуры (10—29°).

В конце периода активности, перед тем как перейти в состояние покоя, насекомые собираются в зоне, близкой к оптимуму, в которой наблюдается понижение интенсивности дыхания (Зенякин, 1937; Граевский, 1946; Тихомирова, 1973).

У многих видов отмечено наличие температурной зоны, в которой снижается интенсивность потребления кислорода (Кожанчиков, 1936; Зенякин, 1937; Граевский, 1946; Чернышова, Конилов, 1967; Gromysz-Kalkowska, 1970b). Эта зона является физиологическим температурным оптимумом организма, в котором наблюдается наибольшее соответствие между определенными звеньями обмена веществ в организме. Эта область характеризуется наименьшими энергетическими затратами. Эти же авторы указывают на связь между поведением наземных беспозвоночных, их температурной преференцией и состоянием обмена веществ. Они определяют термопреферендум определенного вида пойкилотермного животного как целесообразную динамическую реакцию, минимизирующую энергетические затраты в условиях физиологического температурного оптимума.

Используя описанные типы конструкций термоградиент-приборов, альтернативных камер и приборов с градиентом влажности воздуха, а также установки по испытанию устойчивости к температуре и влажности, разные авторы исследовали представителей большинства групп почвенных животных. Почти во всех работах показано соответствие между поведением беспозвоночных в природе и поведением в лабораторных опытах.

Методы изучения взаимоотношений почвенных беспозвоночных с микроорганизмами

До последнего времени предполагалось, что взаимоотношения почвенных беспозвоночных и микроорганизмов ограничиваются простыми пищевыми связями. Кроме того, интенсивное развитие микроорганизмов в экскрементах животных рассматривалось только как результат размельчения растительных остатков в кишечниках (Kühnelt, 1950; Zachariae, 1963; и др.). Однако взаимоотношения беспозвоночных с микрофлорой значительно сложнее и должны дифференцированно рассматриваться для отдельных групп.

Изучение характера связей почвенных микроорганизмов и беспозвоночных, выявление симбиотических и антагонистических отношений достигается изучением состава микрофлоры в кишечниках и сравнением с таковым в пище и экскрементах. При этом необходимы не только качественные, но и количественные исследования.

Для установления синергических или антагонистических отношений беспозвоночных с микроорганизмами следует сравнивать три основных компонента: пища—кишечник—экскременты.

Правильные сравнительные результаты могут быть получены только при равномерной заполненности кишечника животных пищей, т. е. в период активного насыщения. Пустые кишечника исследуются в случае изучения облигатного симбиоза — специфической микрофлоры пищеварительного тракта или внутриклеточных симбионтов. Система пища—кишечник—экскременты дает положительные результаты при постановке опытов в лабораторных условиях. При сборе материала в поле можно рекомендовать систему пища—кишечники.

Влияние беспозвоночных на микробиологические процессы в почвах осуществляется через их экскременты. Исследуется система пища—экскременты—почва.

Для микробиологических анализов рекомендуется брать свежие экскременты или непосредственно после их выбрасывания, или не позже 1—5 дней после выбрасывания из кишечника. Микробиологическое разложение растительных остатков протекает в экскрементах значительно быстрее, чем в почве. Оно активизировано после прохождения через кишечника животных, но спустя

1—2 мес затухает. Микробиологическая активность экскрементов уравнивается с почвой.

Влияние экскрементов беспозвоночных на развитие микробиологических процессов в почве можно изучать и по другой методике.

Стерильно полученными экскрементами заражают стерильную почву и изучают в ней течение микробиологических процессов, т. е. состав и изменение численности микроорганизмов. Получить стерильно экскременты можно двумя способами. В первом случае у животных стерилизуют поверхность тела и собранные экскременты, помещают затем в стерильную почву. В более упрощенном варианте у животных со стерильной поверхностью тела сажают в стерильную почву и прослеживают за развитием в ней микроорганизмов.

Перед стерилизацией поверхности тела (спиртом, в некоторых случаях стрептомицином, хлорноватистой кислотой) животное следует тщательно отмыть от пригавших комочков почвы, несколько раз сменяя воду.

Представляет интерес изучение течения микробиологических процессов в самих экскрементах. Для этого можно вести наблюдение как за экскрементами, изолированными от почвы, так и за экскрементами, находящимися в почве. Необходим также контроль в виде почвы без животных.

Микроорганизмы вместе с частицами почвы находятся на поверхности тела животных и распространяются беспозвоночными при передвижении в почве. При этом животные влияют на развитие микрофлоры на поверхности тела своими выделениями, в какой-то степени стимулируя или ингибируя ее развитие. Для изучения микроорганизмов на поверхности тела с него делают смывы и высевают на разные среды. При определении общего количества микроорганизмов можно пользоваться методом прямого счета. Животные распространяют микроорганизмы также и со своими экскрементами. В этом случае исследуются стерильно полученные экскременты по описанному выше способу.

Для того чтобы исследовать содержание кишечников, их надо выделить в стерильных условиях. Эта операция распадается на несколько подготовительных этапов: 1) стерилизация помещения; 2) стерилизация инструментов; 3) стерилизация поверхности исследуемого животного; 4) выделение кишечника.

1. Стерилизация помещения. Помещение, в котором

будет ставиться опыт, должно быть чисто вымытым, без пыли. Недопустимо присутствие в нем почвенных образцов и комнатных цветов. Лучшие условия для соблюдения стерильности создаются в специальных боксах, снабженных бактерицидной лампой. Перед вскрытием животных лампа включается на 1 ч. Если бокс отсутствует, можно пользоваться чистой комнатой, которую стерилизуют специальной бактерицидной лампой в течение 1—2 ч. Не следует забывать, что свет лампы может убить животных и микроорганизмы, если оставить сосуд в помещении во время стерилизации. Их из помещения следует предварительно удалить.

2. Стерилизация металлических инструментов производится в специальном стерилизаторе путем кипячения в течение 20—30 мин. Можно также пользоваться обжигом инструментов, помещенных в небольшое количество спирта. Само вскрытие рекомендуется производить в металлической ванночке, залитой парафином. Поверхность парафина стерилизуется подожженным спиртом, налитым в ванночку.

3. Стерилизация покровов животного. Предварительно животное отмывается от приставших к нему комочков почвы. Затем несколько раз ополаскивается в кипяченой и стерильной воде. Покровы крупных животных можно простерилизовать ваткой, смоченной в абсолютном спирте. Но при этом следует правильно выбрать экспозицию для видов с легко проницаемыми покровами, чтобы не простерилизовать частично и содержимое кишечника. Длительность стерилизации 1—1,5 мин. Потеря животным подвижности при отсутствии панциря указывает уже на ожог.

Мелкие животные отмываются при вращении сосуда с кипяченой водой. Если они при этом собираются в клубок, их при следующей отмывке следует разделить кисточкой или пером, отмытым в спирте. Затем следует многократная промывка в стерильной воде с добавкой стрептомицина (1 : 10). Последний смыв высеивается для контроля на МПА, СА и КАА.

Для стерилизации поверхности панцирных клещей применяют свежеприготовленную хлорноватистую кислоту. После стерилизации покровов в случае сомнения можно сделать смыв стерильной водой и посеять его.

4. Выделение кишечника производится рядом с горячей спиртовкой, в пламени которой стерилизуются во время операции иглы и бритвы. На этой же спиртовке

обжигается горлышко пробирки и пробка каждый раз после перенесения кишечника в пробирку.

Пробирка с 10 мл стерильной воды служит для получения первого разведения. Такой способ предохраняет кишечник от высыхания и сохраняет его микрофлору. Для определения массы пробы кишечника пробирку взвешивают до и после наполнения. Надо стремиться к тому, чтобы масса тканей кишечника была бы не менее одного грамма. Поскольку кишечника выделяются в сыром виде, следует брать еще одну навеску и определять влажность для последующего пересчета на абсолютно сухое вещество.

Имеет значение и способ выделения кишечника животного для микробиологических исследований. Животных вскрывают в стерильных условиях и экстирпируют кишечник полностью. У диплопод, изопод и многих личинок мух кишечник, представляющий собой прямую трубку, можно выделить целиком, не вскрывая животное. Такой способ помогает сохранить стерильность и удобен благодаря скорости выделения. Для этого острой бритвой надрезают пищеварительную трубку у ротового отверстия, зацепляют иглой последний сегмент тела, осторожно отделяют его и извлекают кишечник. Желательно отделение от него пищеварительных желез в тех случаях, когда это возможно.

При малых размерах животных и невозможности выделения большого количества кишечника, например у эхитреид и некоторых личинок *Diptera*, из тел беспозвоночных с отмытой и простерилизованной поверхностью тела готовят гомогенат. Применение специальных сред для почвенных микроорганизмов в значительной мере исключает возможное прорастание микробов из других органов. Полезно предварительно, хотя бы по объему или линейным соотношениям, определяемым под микроскопом, установить на массовом материале отношение массы кишечника к массе животного.

Для орибатид был разработан особый метод качественного изучения микрофлоры кишечника (*Seniczak, Stefaniak, 1978*): исследуемое животное заливают в парафиновый блок, срезы готовят скальпелем в стерильных условиях. Содержимое кишечника после вскрытия достается иглой и высеивается на питательную среду.

Методы изучения микроорганизмов приведены во многих руководствах (*Федоров, 1957; Звягинцев, ред.,*

1980). В настоящее время не имеется универсальной среды для выращивания микроорганизмов, которая действительно позволила бы учесть весь комплекс групп и видов. Наиболее подходящей для этого считается олиготрофная среда, приготовленная на почвенной вытяжке. Однако и она благоприятна не для всех групп. Метод прямого счета в настоящее время недостаточно разработан и имеет много недостатков. В частности, он сильно завышает число грибов, так как в отдельных случаях приходится считать то отдельные грибы, то колонии, то особи. Кроме того, использование общего счета было бы мало информативно для выяснения отношений беспозвоночных с микроорганизмами, так как в этом случае невозможно учесть функциональные особенности последних.

Изучение микроорганизмов, участвующих в круговороте азота, производится на средах, содержащих этот элемент в тех или иных соединениях. К ним относятся бактерии, грибы и актиномицеты.

Микроорганизмы, разлагающие органические формы азота, изучаются на мясо-пептонном агаре МПА (твердая среда) или мясо-пептонном бульоне МПБ (жидкая среда), в которых содержатся белковые вещества. Обычно продается готовая среда, куда следует прибавить 1,5—2% агара в зависимости от его сорта для получения МПА. При самостоятельном приготовлении среды следует 500 г свежего размолотого мяса залить 1 л воды, нагретой до 50°, и выдержать 1 ч при той же температуре. Затем экстракт процеживают через марлю, добавляют водопроводной воды до 1 л, кипятят 30 мин, фильтруют и добавляют 0,5% NaCl и 1% пептона, стерилизуют. Полученный МПБ при добавлении агара по указанной норме превращается в МПА.

На крахмало-аммиачном агаре учитываются микроорганизмы, разлагающие минеральные соединения азота, а также актиномицеты. Его состав (в г) следующий:

(NH ₄) ₂ SO ₄ — 1	} на 1 л дистиллированной воды
K ₂ HPO ₄ — 1	
MgSO ₄ — 1	
NaCl — 1	
Мел — 3	
Крахмал — 10	
Агар — 20	

Азотфиксирующие аэробные бактерии учитываются на среде Бейеринка, Эшби или Федорова. Около 30% мик-

роорганизмов, вырастающих, помимо азотобактера, на твердой среде Эшби, относятся к олигонитрофилам (Андренко, 1980) Состав сред (в г) следующий:

1. Среда Бейеринка

Маннит (или глюкоза) — 20,0	}	на 1 л дистиллированной воды
K_2HPO_4 — 0,2		
$CaCO_3$ — 5,0		

2. Среда Эшби

Маннит — 20,0	}	на 1 л дистиллированной воды
K_2HPO_4 — 0,2		
$MgSO_4$ — 0,2		
$NaCl$ — 0,2		
K_2SO_4 — 0,1		
$CaCO_3$ — 5,0		

Для получения твердой среды добавляют 40 г агара.

3. Среда Федорова

Сахароза — 20,0	}	на 1 л дистиллированной воды
K_2HPO_4 — 0,3		
$CaHPO_4$ — 0,2		
K_2SO_4 — 0,2		
$MgSO_4$ — 0,3		
$NaCl$ — 0,5		
$FeCl_3$ — 0,1		
$CaCO_3$ — 5,0		

Анаэробная азотфиксирующая бактерия *Clostridium pasteurianum* изучается на элективной безазотистой среде С Н Виноградского

Состав среды (в г)

K_2HPO_4	— 1,0	}	на 1 л дистиллированной воды
$MgSO_4$	— 0,5		
$NaCl$	— 0,5		
$FeSO_4$	} следы		
$MnSO_4$			
Глюкоза	— 20,0		
$CaCO_3$	— 20,0		

Питательную среду разливают в высокие пробирки. Пробирки с посевом помещаются в термостат при температуре 30° С. Помутнение среды и газообразование служат признаком присутствия клостридиума.

Среди микробов, разлагающих безазотистые органические соединения, беспозвоночные активизируют разви-

тие пектино- и целлюлозоразрушающих микроорганизмов.

Пектиноразлагающие бактерии выделяют чаще всего при помощи метода Фрибеса: из льняной соломки или стеблей крапивы готовят снопики, которые вываривают в высоких пробирках в течение 7—10 мин. Затем воду сливают и стерилизуют при 105° 15 мин. Производят посев. Помутнение среды и газообразование служат признаком присутствия *Clostridium pectinovorum*.

Целлюлозоразрушающие микроорганизмы изучаются на средах Омелянского и Гетчинсона (жидкой и твердой). Состав сред (в г):

1. Среда Омелянского:

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	— 10,0	} на 1 л дистиллированной воды
K_2HPO_4	— 1,0	
MgSO_4	— 0,5	
NaCl	— следы	

2. Среда Гетчинсона:

K_2HPO_4	— 1,0	} на 1 л дистиллированной воды
CaCl_2	— 0,1	
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	— 0,3	
NaCl	— 0,1	
FeCl_2	— 0,01	
NaNO_3	— 2,5	

В эти среды помещаются полоски с фильтровальной бумагой.

По методу Пушкинской среды агаризируются. На стерильную твердую среду производится посев гомогената тканей, который равномерно распределяется шпателем по поверхности чашки Петри; затем на нее накладываеться стерильный фильтр или кусок стерильной бумаги по форме чашки. По методу Христенсена посев производится комочками почвы. Учет почвенных микроскопических грибов производится на сусло-агаре или среде Чапека. Для сравнительного количественного определения важно придерживаться одних и тех же методов обработки.

Сусло-агар Сусло рекомендуется получить на пивном заводе, разбавить водой до содержания сахара 6—8% (обычно 3 раза). Стерилизуют пивное сусло при 115° в течение 20 мин. Агар добавляют в количестве 1,5—2%. В стерильный расплавленный и слегка охлажденный агар до его разлива в чашки Петри вносится стрептомицин (40—50 мг стрептомицина на 1 мл среды).

Среда Чапека имеет следующий состав (в г):

Сахароза	— 30,0	} на 1 л дистиллированной воды
NaNO ₃	— 2,0	
KH ₂ PO ₄	— 1,0	
MgSO ₄ ·7H ₂ O	— 0,5	
KCl	— 0,5	
FeSO ₄	— 0,01	
Агар	— 15,0	

Общее количество почвенных бактерий рекомендуется определять на среде из почвенной вытяжки. Почвенный экстракт лучше получать по методу Пошона. Плодородная почва с близкой к нейтральной средой смешивается с равным количеством нехлорированной воды и отстаивается 24 ч при комнатной температуре. На следующий день смесь прогревается в автоклаве при 130°, декантируется и фильтруется в горячей воде через фильтровальную бумагу. рН, если нужно, усредняют, затем фильтрат стерилизуют. Для приготовления твердой среды добавляют 1,5%-ный агар.

При использовании низинного сырого торфа соотношение почва—вода должно быть 1:5.

При анализе важно знать, как и сколько материала надо набирать для достоверного опыта. Придерживаясь правил микробиологической техники, берут по 10 г пищи и экскрементов. Кишечники в таком количестве можно выделить только у гигантских тропических видов. Поэтому в среднем мы выделяем по 1 г кишечников, если для этого надо вскрыть несколько десятков особей (не менее 30). Если 1 г набирается при вскрытии 10—12 особей, то рекомендуется вести выделение из трех пробирок по 1 г кишечников в каждой.

Поскольку материал собирается сырой, надо тут же брать отдельные навески на определение влажности. Сама почва в опыте для сохранения влажности и своих структурных свойств стерилизуется в автоклаве 1,5 ч при 2 атм (Жданникова, 1963).

Использование статистических методов в почвенной зоологии

Мы можем судить о природных явлениях только по результатам наблюдений, объем которых неизбежно ограничен и не может охватить всей совокупности однотипных явлений. Это общее соотношение определяется в статистике понятиями генеральной совокупности и выборки. Генеральной совокупностью называется все множество однородных элементов, событий, явлений, процессов, отношений и т. п. Часть элементов генеральной совокупности, на основе которых делается суждение о ее свойствах, называется выборкой, а соответствующий такому приему статистический метод — выборочным.

Таким образом, предполагается, что существуют некоторое истинное состояние (свойства) исследуемой генеральной совокупности и оценка состояния, полученная на основе выборки. Эта оценка может существенно отличаться от истинного состояния. Очевидно, что с ростом числа наблюдений (увеличение объема выборки) значительные отклонения оценки от истинного значения становятся все менее вероятными. Вероятность отклонения выборочного значения от истинного в зависимости от объема выборки подчиняется определенным законам, на основе которых можно определить интервал значений, с наибольшей вероятностью включающий истинное. Любое исследование опирается на некоторые предварительные, хотя бы и очень общие предположения об объекте или явлении и фактически сводится к проверке их истинности. Предположения в выборочном методе называются статистическими гипотезами. Правило, позволяющее отвергнуть или принять гипотезу на основании выборки, называется критерием статистической гипотезы (правило принятия решения).

Возможны следующие четыре варианта: 1) гипотеза

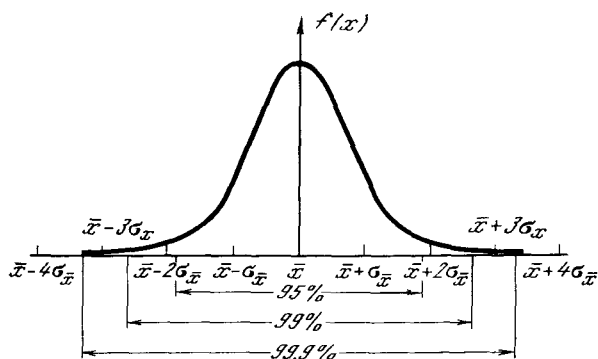


Рис. 46. Доверительные интервалы (доверительная вероятность), соответствующие уровни значимости α : 0,05; 0,01; 0,001

верна и принимается согласно правилу (критерию); 2) гипотеза неверна и отвергается согласно правилу; 3) гипотеза верна, но отвергается согласно правилу (ошибка первого рода); 4) гипотеза неверна, но принимается согласно правилу (ошибка второго рода).

Вероятность (α) отвергнуть гипотезу, если она верна (ошибка первого рода), называется уровнем значимости данного критерия. Соотношение возникающих вариантов показано на рис. 46. Гипотеза принимается в качестве истинной при соответствии выборочного значения интервалу, определяемому границами допуска уровня значимости α (вероятности напрасно отвергнуть гипотезу).

Статистическая оценка подразумевает, что полностью исключить ошибки как первого, так и второго рода невозможно. Их вероятность, хотя бы и на очень малую величину, все-таки больше нуля. Поэтому в любом случае мы вынуждены принимать или отвергать гипотезу при некотором допуске уровне значимости α . Выбор уровня определяется содержательной стороной исследования. В статистике принято три уровня значимости: 1) $\alpha=0,05$; 2) $\alpha=0,01$; 3) $\alpha=0,001$. Величина ошибки должна быть поставлена в зависимости от ответственности вывода. Если принятая гипотеза служит основой для широкой экстраполяции вытекающих из нее следствий, то ошибки должны быть минимальными. Изложенные выше основные принципы математической статистики приложимы к исследованию в области любой естественной науки.

В своей практике эколог исследует различные объекты, характеризующиеся набором признаков. Некоторые из признаков специфичны, другие могут характеризовать различные объекты. Столь же разнообразен и арсенал методических приемов. Эффективное применение статистических методов может быть достигнуто при корректном согласовании свойств объекта и условий организации наблюдений с возможностями конкретного статистического метода. Вместе с тем один и тот же статистический метод во многих случаях применим к весьма различным объектам.

В практике почвенной зоологии объектом исследования могут быть группы особей, выделяемые по специфическим признакам: стадия онтогенеза, возраст, размер—масса, генетические и фенотипические признаки, тип и степень активности и т. п. Очевидно, что элементом такого рода исследований является непосредственно особь конкретного вида.

В почвенной зоологии традиционно рассматриваются также структурно-функциональные группы, выделяемые по различным признакам. В одних случаях выделение групп идет строго по трофическому признаку, в других случаях рассматривается видовая принадлежность. В соответствии с этим объектом может быть, например, группа сапрофагов или только дождевые черви. Элементы таких объектов — соответствующие группы особей, выделяемые по типу питания, или виды. Традиционно разделение почвенных беспозвоночных и по размерам: мезофауна, микрофауна и пр.

Территория и временной интервал, в рамках которых исследуются соответствующие объекты, определяются как свойствами самого объекта, так и задачами исследования. В зависимости от этого конкретное наблюдение объекта территориально может соответствовать почвенному агрегату, ризосфере, почвенной пробе с линейными размерами от нескольких квадратных сантиметров до квадратных метров и более, биогеоценозу в целом и их генетическим территориальным совокупностям и т. д.

Методы статистического описания выборочных совокупностей

Обычно по некоторым внешним легко наблюдаемым признакам выделяют предположительно однородные группы элементов, например однородные по возрасту группы при определении биометрических характеристик особей; учет численности почвенных беспозвоночных в пределах территорий, относительно однородных по растительности, и т. д. Однородной можно считать такую совокупность, которая образована элементами, практически неразличимыми по рассматриваемым признакам.

Распределение случайных событий. Математическая модель однородности предсказывает вероятность конкретного случайного события. Различные случайные события имеют различную вероятность. Если каждому событию x_i поставить в соответствие вероятность $p(x_i)$, то получим распределение вероятностей случайных событий: случайное событие, или случайная величина x_i , принадлежит множеству X , $i=1, 2, \dots, n$. Тогда $p(x_i)$ — вероятность события (случайной величины) x_i и $\sum_{i=1}^n p(x_i) = 1$.

Центральные моменты распределения. Распределение вне зависимости от того, отражает ли оно однородное случайное поведение или неоднородные условия, характеризуется центральными моментами.

Для дискретных признаков (наличие или отсутствие вида в пробе, наличие или отсутствие четко различимых морфологических признаков и т. п.) центральные моменты определяются формулой

$$\mu_r = \sum_{k=1}^s P_k (x_k - \bar{x})^r,$$

где x_k — случайные события; \bar{x} — математическое ожидание, среднее значение случайного события; P_k — вероятность соответствующего отклонения значения случайного события от математического ожидания; s — число дискретных состояний события; $r=1, 2, 3, \dots, n$ — номера моментов.

Для случая непрерывного изменения случайного значения признака (размер особи, биомасса и т. п.) цент-

ральные моменты определяются соответственно формулой

$$\mu_z = \int (x - \bar{x})^z p(x) dx.$$

Техника расчета центральных моментов на основе выборки и в том и в другом случае одинакова.

Каждый из моментов характеризует важные особенности распределения, имеющие вполне определенный физический смысл. Ниже приведены стандартные названия соответствующих моментов и их возможная физическая трактовка (табл. 9).

Данных четырех моментов в большинстве случаев достаточно для однозначной характеристики распределения. Моменты являются параметрами распределения. Для того чтобы определить вероятности конкретных событий, необходимо знать вид уравнения (*закон распределения*), в который эти параметры входят. Теоретическими уравнениями и соответственно *теоретическими распределениями* называются уравнения, выводимые из однозначных представлений о процессе, т. е. на основе его математической модели.

За безразмерные числовые характеристики можно принять числа $M_r = \mu_r / \sigma^r$ или $M_r = \overline{\mu_r} / \sigma^r$.

Вводятся также безразмерные специальные коэффициенты: $V = \sigma / \bar{x}$ — коэффициент изменчивости (вариации); $A = \mu_3 / \sigma^3$ — коэффициент асимметрии; $E = \mu_4 / \sigma^4 - 3$ — коэффициент эксцесса.

При помощи этих безразмерных коэффициентов можно сравнивать не только разные распределения одной случайной величины, но и распределения различных величин.

Если распределение симметрично относительно центра распределения, то центральные моменты нечетного порядка обращаются в нуль и коэффициент асимметрии равен нулю. Если относительный максимум распределения находится справа от центра, т. е. более часты значения случайных величин больше средней, коэффициент асимметрии положителен и тем выше, чем больше отклонение от среднего в сторону максимума. В противном случае коэффициент асимметрии отрицателен. Таким образом, знак асимметрии указывает направление несимметричности кривой распределения, а величина — масштаб асимметричности.

Таблица 9. Названия и трактовка центральных моментов

Номер момента	Моменты μ_r	Название момента m_r	Типичная трактовка
1	\bar{x}	Математическое ожидание, <i>среднее арифметическое</i>	Центр тяжести
2	$\sigma^2 = \sum_{k=1}^s P_k (x_k - \bar{x})^2$	<i>Дисперсия</i>	Мощность; оценка амплитуды, разброса
3	$\mu_3 = \sum_{k=1}^s P_k (x_k - \bar{x})^3$	Третий момент	Отражает смещение (асимметрию) распределения относительно центра тяжести
4	$\mu_4 = \sum_{k=1}^s P_k (x_k - \bar{x})^4$	Четвертый момент	Отражает степень фокусировки (эксцесс) распределения относительно центра тяжести

Если распределение подчиняется *нормальному закону* (см. ниже), то коэффициент эксцесса равен нулю. Если же в распределении некоторое случайное событие или значение случайной величины отмечается с очень большой частотой, то коэффициент эксцесса положителен. Если же значения случайной величины, близкие к средней, встречаются с очень низкой частотой, то коэффициент эксцесса отрицателен и распределение имеет или очень выположенную форму, или бимодальный, или полимодальный вид.

Модели однородного случайного процесса. В математической статистике основополагающими являются модели однородности, получаемые при наиболее простых и очевидных условиях.

Биномиальный закон. Обратимся к лотерейному барабану. В барабане имеются пять пронумерованных шаров (1—5). После вращения барабана выпадает только один шар. Спрашивается: с какой вероятностью в x повторных испытаниях из n испытаний выпадает шар с номером 4? Вероятность выбрать наугад шар с этим номером в одном испытании из пяти шаров $P(4) = 1/5$. Следовательно, вероятность выпадения четвертого шара в первых x испытаниях в соответствии с правилом умножения

вероятностей при независимых событиях составит

$$P_{(4)}^x = (1 - P_{(4)})^{n-x}.$$

Такой порядок выпадения четвертого шара является одним из C_n^x возможных сочетаний его с другими шарами: $C_n^x = \frac{n!}{x!(n-x)!}$. Следовательно, вероятность выпадения четвертого шара x раз в n испытаниях есть

$$p(x) = C_n^x p^x (1-p)^{n-x}.$$

Пример: при $p=0,2$, $x=4$, $n=10$, $C_n^x = \frac{10!}{4!6!} = 210$.

Следовательно, в десяти испытаниях один и тот же шар может встречаться по четыре раза в 210 различных последовательностях (сочетаниях). Следовательно, вероятность обнаружить четыре раза шар с данным номером в десяти испытаниях $P(4) = 210 \cdot 0,2^4 \cdot 0,8^6 = 0,088$. Если, например, испытания $C_n=10$ проводятся 20 раз, то число (частота) серий, в которых один и тот же шар встречается четыре раза (n_x), определяется $n_x = 0,088 \cdot 20 = 1,76 \approx 2$. Этот результат ожидаемый и наиболее вероятен, если реальная ситуация соответствует условиям, принятым в модели.

Биномиальное распределение характеризуется следующими параметрами: $\mu_1 = np$ — математическое ожидание «наличия» интересующего нас признака (в примере шара с $n=4$); $\sigma^2 = np(q)$ — дисперсия, $q = 1-p$; $\mu_3 = np(1-p)(1-2p)$; $\mu_4 = n(1-p)[1+3(n-2)p(1-p)]$.

Таким образом, все особенности биномиального распределения определяются вероятностью p обнаружить интересующий нас признак и количеством объектов, включаемых в конкретное испытание. На рис. 47 приведены распределения, соответствующие различным значениям параметров.

Биномиальное распределение как математическая формулировка гипотезы однородности широко применяется в экологических исследованиях. Например, исследуется, однородно ли распределены самцы и самки некоторого вида по территории. В этом случае p — доля самцов, q — доля самок. В пределах территории выбираются случайным образом в разных точках пробы по n особей. Если распределение в природе действительно однородное, то оно должно быть подобно теоретическому, рассчитанному на основе тех же параметров. Другой пример: на

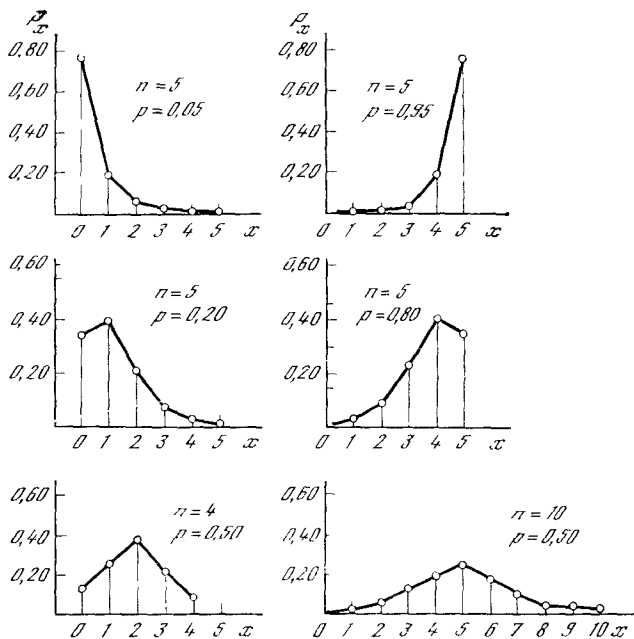


Рис. 47. Биномиальное распределение при разных значениях параметров n и p

территории встречается N видов. В среднем в каждой пробе обнаруживается K видов. Если распределение видов однородно, то оно должно определяться параметром $p' = K/N$. Вероятность обнаружить в конкретной пробе только один вид, два вида и т. д. до N рассчитывается на основе биномиального закона. Сопоставляя теоретическое распределение с реально наблюдаемым, можно сделать вывод о действительной ситуации.

Полиномиальное распределение. Биномиальное распределение предполагает наличие только двух альтернативных независимых признаков (самка, самец; половозрелый, неполовозрелый; присутствие, отсутствие и т. п.). В действительности часто приходится иметь дело с набором взаимоисключающих признаков.

Полиномиальное распределение вводится при тех же логических условиях, что и биномиальное, но с одновременным учетом всех независимых признаков (1, 2, 3, ..., ..., n):

$$p(x_1, x_2, \dots, x_n) = \frac{N!}{x_1! x_2! \dots x_n!} p_1^{x_1} p_2^{x_2} \dots p_n^{x_n}.$$

$$x_1 + x_2 + \dots + x_n = N; p_1 + p_2 + \dots + p_n = 1.$$

Полиномиальный закон позволяет рассчитать вероятность встречаемости различных n элементов в строго определенных соотношениях при условии их независимости и однородности наблюдений. По сути дела, полиномиальное распределение широко используется в экологии. Так, стандартные расчеты доли участия видов от всей совокупности особей в одной пробе или нескольких пробах есть нечто иное, как аналог полиномиального распределения. Если виды не зависят друг от друга, то ожидаемые их соотношения могут быть предсказаны на основе полиномиального распределения. Следовательно, полиномиальное распределение может быть хорошей гипотезой проверки независимости видов. Оценка видового разнообразия на основе энтропии прямо связана с полиномиальным распределением.

Отрицательное биномиальное распределение (распределение Паскаля). Это распределение наблюдается при тех же физических условиях, что и биномиальное, но при ином правиле выбора. Выбор осуществляется до тех пор, пока интересующий нас объект, например шар с номером 4, при условии возвращения его в барабан выпадает точно m раз.

В этом случае $p(x)$ есть вероятность появления этого шара в $m+x$ -й раз точно после $m+x-1$ испытания. Очевидно, если величина x мала и общий объем испытаний (выборки) $n = m+x$ мал, вероятность иметь успех точно в m -й раз низка. Точно так же если x очень велико, то вероятность успеха, в m -й раз также низка. Вероятность появления шара описывается уравнением

$$p(x) = C_x^{m+x-1} p^m (1-p)^x, \quad \mu_1 = m \frac{1-p}{p}.$$

Математическое ожидание испытаний без успеха в серии со средней длиной $\mu_1 + m$:

$$\sigma^2 = (1-p)/p^2.$$

Связь между дисперсией и математическим ожиданием задается выражением

$$\sigma^2 = \mu_1 + k\mu_1^2,$$

где $k = 1/m$ (Макфедьен, 1965).

Отрицательным биномиальным распределением очень часто аппроксимируются реальные распределения дискретных объектов, например особей одного вида в пространстве. Характерной его чертой является наличие проб с относительно большим числом особей и проб, где особи данного вида вообще отсутствуют.

При этом μ_1 есть среднее число особей в пробе, а $p(x)$ — вероятность проб с числом особей x . Тогда m можно интерпретировать как некоторое число мест или объем пространства, необходимого в среднем для каждой особи. Параметр распределения p можно трактовать как долю мест на территории, благоприятных для особей данного вида. Такая модель выбора мест в однородном пространстве допускает существование на однородной территории с биномиальным распределением ресурсов, участков, где особь будет находить m пригодных неиспользуемых условий, несмотря на большое число бесплодных столкновений с $x-1$ особью. В этих условиях некоторое время сохраняются более многочисленные группы особей, тогда как на других участках число особей данного вида мало либо они отсутствуют.

Коэффициент вариации отрицательного биномиального распределения $V = \sqrt{m(1-p)}$.

При прочих равных условиях чем больше m , тем больше варьирование численности в пространстве и тем более четко выражены группы. И чем меньше вероятность обнаружить необходимый ресурс (p), тем больше вероятность группового распределения.

Отрицательное биномиальное распределение объектов на некоторой однородной территории со случайным варьированием имеет место при ничтожно малых взаимодействиях между особями. При интенсивной конкуренции распределение более равномерно, при взаимном «притяжении» групповой характер выражен еще более четко.

Распределение Пуассона (распределение редких событий). Если при условиях биномиального распределения вероятность признака очень мала, $p < 0,1$, то хорошим приближением является распределение Пуассона:

$$p(x) = \frac{\lambda^x}{x!} e^{-\lambda}.$$

$$\mu_2 = \sigma^2 = \lambda; \quad \mu_3 = \lambda; \quad \mu_4 = 3\lambda^2 + \lambda.$$

Закон Пуассона моделирует распределение очень редких независимых событий элементов в однородной ситуации.

Нормальное распределение. В отличие от рассмотренных ранее это распределение не дискретно, а непрерывно. Как и предыдущие, нормальное распределение выводится исходя из условий однородности: 1) значение случайной величины X представляет собой отклонения от некоторой постоянной величины; 2) каждое из отклонений есть результат случайного действия большого числа причин, каждая из которых вызывает малое случайное отклонение; 3) указанные причины действуют независимо.

Плотность нормального распределения описывается уравнением

$$p(x) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{1}{2}\left(\frac{x-M}{\sigma}\right)^2},$$

где $p(x)$ — вероятность непрерывной величины x ; M — первый центральный момент (математическое ожидание случайной величины x); $\sigma = \sqrt{\sigma^2}$ — среднеквадратическое отклонение. Обычно записывают $t = (x - M)/\sigma$. Стандартные таблицы для определения вероятности случайной величины x строятся относительно t . На рис. 48 приведена типичная кривая нормального распределения. Центральные моменты нормального распределения: $\mu_1 = M$; $\mu_2 = \sigma^2$; $\mu_3 = 0$; $\mu_4 = 3\sigma^4$.

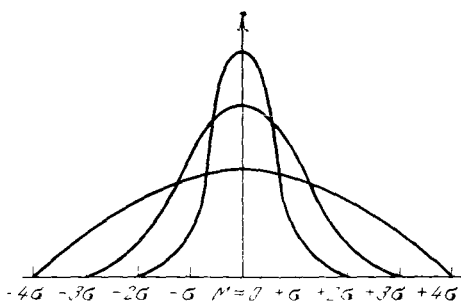


Рис. 48. Кривые нормального распределения с параметрами: $M=0$; $\sigma=2$; $\sigma=3$; $\sigma=4$

Нормальное распределение имеет следующие особенности:

1) кривая нормального распределения симметрична относительно первого центрального момента; третий центральный момент — мера асимметричности, равна 0; 2) в 50% случаев случайная величина отклоняется от средней не более чем на $\pm 0,674\sigma \approx \frac{2}{3}\sigma$; 3) случайная величина с вероятностью примерно 0,95 лежит в интервале $\pm 2\sigma$ и 0,997 — в интервале $\pm 3\sigma$; 4) для быстрого построения кривой нормального распределения можно использовать следующие соотношения (Закс, 1976):

Значение абсциссы x	0	$\pm 0,5\sigma$	$\pm 1,0\sigma$	$\pm 2,0\sigma$	$\pm 3\sigma$
Значение соответствующей ординаты $p(x)$	$\frac{0,399}{\sigma}$	$\frac{0,35}{\sigma}$	$\frac{0,24}{\sigma}$	$\frac{0,05}{\sigma}$	$\frac{0,0059}{\sigma}$

Нормальная функция распределения (кумулята) имеет вид

$$\Phi(x) = \frac{1}{\sigma \sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^x e^{-\frac{1}{2} \left(\frac{x-M}{\sigma}\right)^2} dx;$$

$$dx = \Phi(t); \quad t = \frac{x-M}{\sigma}.$$

По табличным значениям этой функции (Г. Корн, Т. Корн, 1984) легко рассчитать вероятность попадания случайной величины x в заданный интервал $\Phi(a < x < b)$. Для этого необходимо определить вероятность попадания случайной величины в интервал от ∞ до b — $\Phi(\infty < x < b)$ и $\Phi(-\infty < x < a)$. Искомая вероятность описывается выражением $\Phi(a < x < b) = \Phi(-\infty < x < a) - \Phi(-\infty < x < b)$. Используя эту процедуру, легко построить теоретическое распределение вероятностей попадания случайной величины в любой интервал, что используется при сравнении реального распределения с теоретическим, от вечаяющим гипотезе однородности.

Исследование реальных распределений

Дискретные признаки. Сформулированные выше математические модели однородности позволяют оценить соответствие реальной ситуации гипотезе однородности, т. е. тождества объектов, принадлежащих к одной генеральной совокупности, так что все наблюдаемые различия могут трактоваться как чисто случайные.

Приемы статистической обработки материала приведены на примере учетов дождевых червей на участке с однородной растительностью. Всего заложено 18 почвенных проб (табл. 10).

Проверяется гипотеза однородности территории по видовому богатству. Вероятность встретить в пробе x видов в соответствии с биномиальным распределением равна $p(x) = C_6^x p^x (1-p)^{6-x}$, где 6 — общее число видов. Необходимо определить параметр p :

$$p = \frac{\sum x_i - \text{наблюдаемое число видов в пробе } i}{\text{число проб} = 18 \cdot \text{общее число видов} = 6} = 0,63.$$

В среднем в пробе выявляется 63% видов, присутствующих на территории.

Схема теоретического распределения и его сравнение с фактическим:

Число видов в одной пробе x_i	0	1	2	3	4	5	6
Вероятность x_i $p(x_i)$	0,002	0,006	0,12	0,25	0,32	0,22	0,06
Теоретическое распределение $n(x) = p(x)18$	0	0,5	2	4,5	6	4	1
Наблюдаемое распределение $n(x)$	0	0	2	5	7	3	1

Теоретическое распределение подобно фактическому. Можно ли считать наблюдаемые различия случайными или они существенны? Если справедливо последнее, то мы должны отказаться от гипотезы однородности. Для проверки справедливости этой гипотезы необходимо ввести соответствующие статистические критерии.

Можно предположить, что математическое ожидание проявления пяти видов в одной пробе составляет 0,22 при среднем — 3,78 вида в пробе. Вероятность в выборках по 18 проб может быть оценена на основе биномиального распределения:

$$\alpha(k\text{-проб из } 18 \text{ с пятью видами}) = \frac{18!}{k!(18-k)!} 0,22^k \cdot 0,78^{18-k}$$

k	0	1	2	3	4	5
$\alpha(k)$	0,01	0,058	0,139	0,209	0,221	0,175

k	6	7	8	9	10	11	... 18
$\alpha(k)$	0,107	0,051	0,02	0,006	0,002	1,4 ⁻¹²	

Таким образом, введен критерий принятия или отбрасывания гипотезы однородности. Например, если бы в реальной выборке при тех же параметрах ($N=18$; $P=0,63$) пяти видов вообще бы не наблюдалось, то гипотеза однородности была бы верна всего лишь в одном случае из 100 $\alpha(k=0)=0,01$ и по этому критерию мы ее могли бы отвергнуть. Если пять видов наблюдались только в одной выборке, то гипотеза однородности была бы верна в шести случаях из 100, что обычно считается также недостаточным. Для задач такого рода гипотеза однородности будет приниматься при $\alpha(k) > 0,1$. Согласно этому критерию, выборки по 18 проб с двумя—шести пробами с пятью видами должны быть отнесены к однородной генеральной совокупности.

В математической статистике критерии значимости опираются на гипотезу независимости выборок. В нашем примере использован критерий значимости, измерявший отклонения только по рангу распределения. Более мощным критерием было бы измерение отклонений по всему распределению. В таком варианте надежность принятия решения, очевидно, повысилась бы. В данном случае наиболее мощным является критерий χ^2 , опирающийся на закон распределения квадратов разности независимых случайных величин, принадлежащих одной генеральной совокупности. В данном случае требуется сопоставить теоретическое распределение с параметром $p(x)$ с фактическим и определить тождество реального распределения теоретическому биномиальному и соответственно степень однородности исследованной нами территории по видовому составу дождевых червей:

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^i \frac{(n(x) - Np(x))^2}{Np(x)},$$

где $p(x)$ — теоретическая вероятность проб с x видами ($x=0, 1, 2, 3, 4, 5, 6$); $n(x)$ — число проб с x видами в выборке; N — число проб в выборке ($N=18$).

Таблица 10. Результаты учета численности дождевых червей (ельник-кисличник, Московская обл.)

Вид	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
<i>L. rubellus</i>	3	3	0	4	1	4	10	2	8	5	2
<i>L. castaneus</i>	4	2	2	5	2	3	1	0	7	2	0
<i>N. caliginosus</i>	2	12	3	5	0	0	0	2	0	6	0
<i>E. rosea</i>	2	6	3	0	1	2	1	0	1	2	0
<i>D. octaedra</i>	1	1	4	1	1	0	2	2	0	4	0
<i>O. lacteum</i>	0	0	0	0	0	0	5	1	3	2	5
Всего	12	24	12	15	5	9	19	7	19	21	7

В нашем случае $\chi^2=0,97$ при $c-1=5$ степенях свободы.

При пяти степенях свободы фактическое распределение можно было бы считать достоверно отличным от теоретического ($\alpha=0,1$), при $\chi^2=9,2$. Полученная оценка χ^2 соответствует $\alpha \approx 0,95$. Если бы мы допустили, что рассматриваемые распределения различны, то мы были бы неправы в 95 случаях из 100. Следовательно, эти два распределения тождественны, и распределение видового состава дождевых червей по территории однородно.

Оценки распределения генеральной совокупности по каждой частной выборке могут отличаться друг от друга, не выходя за рамки случайных отклонений. Амплитуда допустимых отклонений (доверительная область) зависит от объема выборки: чем больше выборка, тем уже доверительная область и тем более определенно можно судить о параметрах генеральной совокупности.

Оценки параметров генеральной совокупности на основе выборки называются статистиками. Если выборки из одной генеральной совокупности независимы, то оценки, полученные на их основе (статистики), сами распределены по прежнему закону. На основе этих законов можно определить доверительную область каждой статистики при соответствующем объеме выборки. В табл. 11 приведены параметры, их статистики, ошибки статистик при условии нормального распределения в выборке и для некоторых статистик распределение ошибок. Если распределение в выборке нормально или близко к нормальному и известны распределения ошибок статистик, то на основе выборочной совокупности с учетом доверительно-

1.	13	14	15	16	17	18	χ	\bar{x}	σ	p	m
1	3	1	1	1	12	3	54	3	2,57	0,454	2,49
3	1	1	0	0	3	2	38	2,11	1,875	0,599	3,16
0	1	3	2	3	0	0	39	2,16	3,07	0,299	0,64
0	1	0	0	2	2	0	23	1,28	1,53	0,547	1,54
0	0	0	0	0	1	0	17	0,94	1,3	0,556	1,18
5	0	0	1	2	0	0	24	1,33	1,91	0,365	0,76
9	6	5	4	8	18	5	195	10,83	6,20		

го интервала определяется область, в которой с наибольшей вероятностью должно оказаться истинное значение исследуемого параметра. При достаточном объеме выборки большинство распределений сходится к нормальному и доверительные интервалы оцениваются по критерию Стьюдента. Поэтому и в тех случаях, когда распределения ошибки статистики какого-либо параметра неизвестны, приближенно можно оценить интервал, в котором должно находиться истинное значение. Однако при малом объеме выборки порядка 10—20 наблюдений такие оценки чаще всего неприемлемы. На практике дело усложняется еще и тем, что обычно распределения в выборке более или менее существенно отличны от нормального. Чем больше это отличие, тем менее оправдана оценка доверительного интервала на основе статистик. В этих случаях применяют специальное преобразование наблюдаемых величин, в результате которого распределение по своему виду приближается к нормальному. В табл. 12 приведены простейшие критерии отнесения конкретного выборочного распределения к одному из возможных типов распределений, отвечающих гипотезе однородности. Конечно, только на основе этих критериев нельзя определить, действительно ли выборочное распределение отображает именно условия однородности. Как и в выше приведенном примере, необходимо сравнить выборочное распределение с соответствующим теоретическим.

На примере дождевых червей мы имели дело с дискретным распределением. Дискретное распределение можно свести к непрерывному, если число особей в каждом пробном достаточном велико, так что среднее оценивает-

Таблица 11. Параметры, статистики и ошибки статистик

Параметр	Статистика	Ошибка	Распределение
M (математическое ожидание — первый центральный момент)	$\bar{x} = \frac{1}{n} (x_1 + x_2 + \dots + x_n) = \frac{1}{n} \sum_{k=1}^n x_k$ $\bar{x} = \frac{1}{n} (n_1 x_1 + n_2 x_2 + \dots + n_x x_n) = \frac{1}{n} \sum_{k=1}^n n_k x_k$	$\Delta \bar{x} = \frac{s}{\sqrt{n}}$	Стьюдента
σ^2 (дисперсия — второй центральный момент)	$s^2 = \frac{1}{n-1} \sum_{k=1}^n (x_k - \bar{x})^2 = \frac{1}{n-1} \sum_k x_k^2 - \bar{x}^2$		Фишера
σ (стандартное отклонение)	$s = \sqrt{s^2}$	$\Delta s = \frac{s}{\sqrt{2n}}$	

Таблица 11 (окончание)

Параметр	Статистика	Ошибка	Распределение
V_3 (коэффициент вариации)	$k\% = \frac{s}{x}$	$\Delta k\% = \frac{k\%}{\sqrt{2n}} \sqrt{\frac{1}{1 + 2 \frac{k\%^2}{100}}}$	Нормальное
V_4 (показатель асимметрии) (эксцесс)	$V_3 = \frac{u_4}{s^3} = \frac{\sum (x_i - \bar{x})^3}{ns^3}$ $V_4 = \frac{u_4}{s^4} - 3$	$\Delta V_3 = \sqrt{\frac{6n(n-1)}{(n-2)(n+1)(n+3)}}$ $\Delta V_4 = \sqrt{\frac{2u_4(n-1)^2}{(n-2)(n-3)(n+3)(n+5)}}$	
p (доля вариант)	\tilde{p}_i	$\Delta \tilde{p} = \sqrt{\frac{p(1-p)}{n}}$	

Таблица 12. Критерии распределений и способы преобразований

Отношение дисперсии к среднему ($k = s^2/\bar{x}$)	$K < 0,8$	$0,8 < K < 1,2$	$K > 1,2$
Распределение	Нормальное	Пуассона	Отрицательное биномиальное (Паскаля)
Способ преобразования		Если $\bar{x} \geq 0$, то $x'_i = \sqrt{x_i}$; если $x \leq 10$, то $x'_i = \sqrt{x_i + 0,5}$	Если $x_i \neq 0$, то $x'_i = \lg x_i$; если $x_i = 0$, то $x'_i = \lg(x_i + 1)$

ся несколькими десятками. В нашем примере среднее измеряется единицами, и соответственно распределение не может рассматриваться как нормальное. Можно утверждать, что ни одно из распределений не является распределением Пуассона, так как отношение дисперсии к среднему во всех случаях больше 1,2. Следовательно, гипотезу однородности распределения каждого вида по территории можно проверять лишь на основе отрицательного биномиального распределения.

Определим параметры возможного отрицательного биномиального распределения для *L. tubellus*:

$$p = \bar{x}/s^2 = 0,454; \quad m = (xp)/(1-p) = 2,49; \quad .$$

$$\bar{x} = 3; \quad s^2 = 6,6.$$

Следовательно, отрицательное биномиальное распределение

$$p(x) = \frac{(2,49 - 1 + x)!}{x! (2,49 - 1)!} 0,454^{2,49} \cdot 0,546^x.$$

Рассчитывается теоретическое распределение: факториал от дробных чисел удобно оценивать по приближению Стирлинга $n! = n^n \cdot e^{-n} \sqrt{2\pi n}$.

x	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Фактическое распределение	1	5	3	4	2	1	0	0	1	0	1
Теоретическое распределение	2,52	3,42	3,37	2,8	2,1	1,5	1,0	0,7	0,4	0,3	0,2

Гипотезу однородности следовало бы отбросить с $\alpha = 0,1$ при $\chi^2 = 14,68$. Критерий $\chi^2 = 9,14$ при числе степе-

ней свобод $s=10-1=9$. Полученная оценка существенно меньше. Следовательно, фактическое распределение можно считать отрицательным биномиальным, а распределение вида по территории — однородным, случайным.

При этих условиях можно, осуществив логарифмическое преобразование, оценить доверительные интервалы для статистик:

$$x_i' = \lg(x_i + 1); \quad \bar{x}' = 0,529; \quad s^2 = 0,067; \quad m = \pm 0,06.$$

Истинное значение x с вероятностью 0,95 лежит в интервале 0,409—0,649. Проведем потенцирование и вычтем 1. Доверительный интервал для среднего 1,56—3,45. Среднее составляет 2,38. Очевидно, что это уже не среднее арифметическое, а среднее геометрическое, равное

$$\bar{x} = \sqrt[n]{x_1 x_2 x_3 \dots x_n}.$$

Из однородности местообитания для одного вида не следует обязательная однородность того же местообитания для других. В качестве примера исследуем распределение по пробам *Octolasmus lacteum*. Так же как и в первом случае, можно предполагать в качестве модельного только отрицательное биномиальное распределение.

Оценка параметров дает $p=0,365$; $m=0,76$. Последняя величина сразу же настораживает, так как при этом распределении $m < 1$.

Ниже приводится теоретическое распределение и сравнение его с фактическим, если принять $m=1$.

x_i	0	1	2	3	4	5
Фактическое распределение	10	2	2	1	0	3
Теоретическое распределение	6,6	4,2	2,6	1,7	1,1	0,7

$\chi^2 = 12,5$; при табличном значении $\alpha=0,05$ $\chi^2 = 11,07$. Следовательно, выборочное распределение — не отрицательное биномиальное распределение и размещение данного вида по территории нельзя считать однородным.

Проверим эту гипотезу по критерию биномиального распределения. При отрицательном биномиальном распределении с оцененными выше параметрами вероятность появления проб с пятью особями $p(5) = 0,7/18 = 0,039$.

Биномиальное распределение, используемое в качестве критерия, будет иметь вид

$$p(5) = \frac{18}{x!(18-x)!} 0,039^x \cdot 0,961^{18-x}$$

$$p(3 \text{ пробы с пятью особями}) = 0,027$$

Следовательно, вероятность такого события при условии однородности меньше $\alpha = 0,05$. По данному критерию пробы с пятью особями не относятся к остальным пробам, образующим единую генеральную совокупность. Анализ показывает, что и распределение *Nicodrilus caliginosus* отличается от случайного. Можно высказать различные гипотезы о причине нарушения однородности распределения: тенденция к образованию скоплений или неоднородность условий среды для этого вида в данном местообитании.

Для проверки этих гипотез необходимы дополнительные специальные наблюдения. Простейшие критерии могут быть выведены на основе отрицательного биномиального распределения (табл. 13).

Выше приведены типичные соотношения между численностью и встречаемостью и пороговые вероятности наблюдения конкретных значений числа особей в пробе при соответствующей средней. С увеличением средней распределение приближается к нормальному. Приведем краткую схему использования в полевой практике таблицы 14. Допустим, что при разборке первых двух проб установлено, что средняя численность оказалась около четырех особей. Если в следующей пробе было 10 и тем более 14—15 особей, то по приведенным критериям возникают сомнения в возможности отнесения всех этих проб к одной совокупности. Тогда целесообразно обратить внимание как на конкретные особенности условий обитания в этих точках, так и на особенности самого объекта учета (размерный, возрастной состав и т. п.). Последующие пробы, давая в среднем большее значение особей, чем первые две, могут выравнивать картину, но это не снижает ценности особого отношения к экстремальным ситуациям. Если же следующие пробы повышают среднее до 8—16 и более, то особого внимания уже требуют первые пробы с малым числом особей.

При больших значениях средней численности (более 15) конкретные пробы с числом особей, различающимся более чем в 5 раз, скорее всего, также относятся к разным генеральным совокупностям.

После исключения нетипичных проб (с пятью особями в каждой) для *O. lacteum* средняя численность оказалась равной 0,46 при среднеквадратичном отклонении 0,74. Проверка по критерию χ^2 позволяет считать распределение вида в целом однородным с относительно небольшой дисперсией. Таким образом, распределение

Таблица 13. Отрицательное биномиальное распределение

x	Встречаемость, %	$P_{x_{\text{мин.}}} < 0,001$	$P_{x_{\text{мин.}}} < 0,01$	$P_{x_{\text{макс.}}} < 0,01$	$P_{x_{\text{макс.}}} < 0,001$
0,5	36	—	—	3	5
1	42	—	—	5	7
2	80	—	—	7	10
4	96	—	—	10—11	14—15
8	99,7	—	1	17	22—23
>16	100	2—3	5	28	36

каждого вида дождевых червей в кисличной парцелле описывается отрицательными биномиальными распределениями с различающимися параметрами. Это значит, что наряду с часто встречающимися значениями числа особей в пробах характерны локальные концентрации особей на ограниченном участке.

Оценить однородность условий для всей совокупности видов, без рассмотрения каждого в отдельности, можно на основе сравнения конкретных учетных проб по распределениям частот всех видов. Предполагается, что распределение особей различных видов в пробах подчиняется полиномиальному закону. Соответственно в качестве нулевой гипотезы допускается, что все виды независимы друг от друга и могут перекомбинироваться на территории в различных пропорциях, не выходящих за рамки случайности.

Для проверки гипотезы однородности для всей совокупности видов можно применить критерий χ^2 , однако расчеты по нему в этом случае очень громоздки. Более технически удобным является информационная статистика (Кульбак, 1967): сравнение r -выборок (I):

$$I = \sum_{i=1}^r \sum_j^c x_{ij} \ln x_{ij} - \sum_{j=1}^c x_j \ln x_j - \sum_{i=1}^r N_i \ln N_i + N \ln N,$$

где r — число проб; c — число видов; x_{ij} — число особей i -го вида в j -й пробе; x_j — число особей j -го вида во всей выборке; N_i — число особей всех видов в i -й пробе; N —

общее число особей всех видов во всей выборке; I — информационный индекс.

$2I \approx \chi^2$ с $r(c-1)$ степенями свободы.

В нашем случае $2I = 2(247,89 - 693,07 - 492,86 + 1082,23) = 180$ при $18(6-1) = 90$ степенях свободы.

При большом числе степеней свободы математическое ожидание χ^2 близко к числу степеней свободы, и если бы χ^2 было бы в данном случае равно 90, то можно было бы утверждать, что в целом условия данной территории для совокупности дождевых червей однородны. Так как χ^2 в 2 раз а больше математического ожидания, то следует рассчитать значение χ^2 , при котором можно было бы отбросить гипотезу однородности с принятым риском ошибки. Этот расчет можно провести по формуле

$$\chi^2(m) \approx \frac{1}{2} (\sqrt{2m-1} + u_\alpha)^2,$$

где u_α — квантили стандартизованного нормального распределения; $u_{0,1} = 1,96$; $u_{0,05} = 2,58$; $u_{0,01} = 3,29$.

В соответствии с этим для

$$\alpha = 0,1 \quad \chi^2(90) \approx 117,6;$$

$$\alpha = 0,05 \quad \chi^2(90) \approx 127,34;$$

$$\alpha = 0,01 \quad \chi^2(90) \approx 138,92.$$

Следовательно, распределение дождевых червей для всей совокупности видов в пределах одной парцеллы не может быть признано случайным и однородным.

Таким образом, распределение *N. caliginosus* и *O. lacteus* не соответствует гипотезе однородности. Возможно, что именно они и определяют общую неоднородность населения.

Проверка нулевой гипотезы однородности для совокупности других четырех видов:

$2I = 2(172,5 - 73,68 - 306,07 + 644,53) = 74,56$ при $18(4-1) = 54$ степенях свободы. Для $\alpha = 0,01$ $\chi^2(54) = 75,69$.

Формально по принятому критерию распределение четырех видов по пробам можно принять однородным. Отклонение от однородного случайного распределения всего населения дождевых червей в основном определяется неслучайным распределением двух видов. Таким образом, различные виды по-разному реагируют на одни и те же условия, и население дождевых червей некоторых проб не может быть отнесено к одной и той же генеральной совокупности.

Рассмотренные примеры проверки гипотезы однородности для дискретных признаков легко распространяются на широкий круг реальных условий организации наблюдений.

Непрерывные признаки. Если рассматриваемые признаки могут трактоваться как непрерывные, то задача сводится к проверке гипотезы о принадлежности выборки к нормальной генеральной совокупности с параметрами $M_1 = \bar{x}$; $M_2 = \sigma^2$. При этом коэффициенты асимметрии и эксцесса должны быть пренебрежимо близки к нулю. Можно также провести оценку принадлежности реальному распределению нормальному на основе индекса дисперсии (ИД):

$$Q = \sum (x_i - \bar{x})^2; \quad \text{ИД} = \frac{Q}{x},$$

где x_i — выборочное значение случайной величины; \bar{x} — выборочное среднее. ИД распределен как χ^2 с $N-1$ степенью свободы, где N — объем выборочной совокупности. Следовательно, если ИД меньше или равен табличному значению χ^2 при $\alpha=0,95$, то распределение может считаться нормальным. В этом случае можно считать распределение нормальным, если ИД пренебрежимо мало отличается от математического ожидания распределения χ^2 , равного числу степеней свободы или меньше его.

В качестве примера рассмотрим распределение веса 67 коконов *Eisenia nordenskioldi*. Получены следующие статистические оценки: $\bar{x} = 29,4$ мг; $\sigma^2 = 12,287$; $M_3 = 9,78$; $M_4 = 697,32$; $V = 0,14$; $A = 0,136$; $E = -0,65$; ИД = 38,49.

Приведенные оценки показывают следующее: 1) распределение близко к нормальному ИД = $N-1$. Формально по этому критерию распределение может считаться нормальным; 2) вместе с тем отмечается небольшое смещение распределения вправо за счет относительно большего, чем это требовалось бы для нормального распределения, участия в выборке крупных коконов; 3) отмечается отрицательный эксцесс, т.е. можно предполагать существование полимодальности.

Так как полимодальность может трактоваться как результат смешанных выборок из нескольких генеральных совокупностей, целесообразно построить распределение и сравнить его с соответствующим теоретически нормальным распределением с параметрами $\bar{x} = 29,4$ и $\sigma^2 = 17,287$. Для этого рассчитывают число классов и вели-

чину классового интервала. Число классовых промежутков определяется как $c = 1 + 3,2 \lg N$.

Для нашего случая оптимальное число классов $c = 1 + 3,2 \lg 67 = 6,84 \approx 7$.

Величина классового промежутка может быть определена:

$$\Delta = \frac{x_{\max} - x_{\min}}{c} = \frac{39,3 - 20,7}{7} = 2,66 \approx 2,7.$$

Удобно строить распределение таким образом, чтобы среднее значение приходилось бы точно на середину среднего класса:

19,95—	22,65—	25,35—	28,05—	30,76—	33,46—	36,17—
22,66	25,36	28,05	30,75	33,46	36,16	38,86

Классовые промежутки удобно выразить в абсолютных отклонениях от среднего $X - \bar{x}$ и в относительных $(X - \bar{x})/\sigma$, так как все стандартные таблицы интеграла вероятностей нормального распределения строятся по относительному отклонению. Далее разносим по градациям частоты из выборочного распределения $n(x)$, определяем на основании стандартных таблиц вероятность попадания конкретного наблюдения в каждую градацию $p(x)$ и рассчитываем ожидаемую частоту для каждой градации $n'(x)$:

$X - \bar{x}$	-11,16	-8,4	-4,05	-1,35	+1,35	4,05	8,46	11,16
$X - \bar{x}$	-2,68	-2,02	0,97	-0,32	+0,32	0,97	2,02	286
σ								
$n(x)$	1	12	11	21		9	12	1
$p(x)$ (теор.)	0,018	0,144	0,208	0,251		0,208	0,144	0,018
$n'(x)$ (теор.)	1,2	9,65	13,94	16,82		13,94	9,65	1,2

Как видно из приведенного выше, распределение действительно имеет заметную полимодальную форму. Расчет критерия χ^2 при шести степенях свободы: $\chi^2 = 4,595$; χ^2 табличное для $\alpha = 0,2 - 8,55$. Следовательно, в целом выборочное распределение может быть признано нормальным, и все коконы, принадлежали к одной генеральной совокупности. Если исследователя интересует, например, биомасса коконов на единицу площади, то он с полным основанием может принять гипотезу нормальности распределения. Если следить за дальнейшей судьбой коконов и вылупляющихся из них червей, то целесо-

образно обратить внимание на возможное существование в выборке трех различных размерных совокупностей со средними в интервале 28,05—30,75 мг; 22,66—25,36 мг и 33,46—36,15 мг.

Действительно, можно проверить статистическую значимость отдельных отклонений фактических частот от теоретических. Например, для класса размерности $(X-\bar{x})/\sigma = 0,32-0,97$ мг.

$$\chi^2 (C = 1) = \frac{(9 - 13,9)^2}{13,9} + \frac{[(67 - 9) - (67 - 13,9)]^2}{67 - 13,9} = 2,17;$$

χ^2 табл. ($\alpha = 0,20$) = 1,642 при одной степени свободы;

χ^2 табл. ($\alpha = 0,10$) = 2,7 при одной степени свободы.

Таким образом, использование статистической оценки и критерия принятия или отбрасывания гипотез должно согласовываться с целями исследования.

ГЛАВА 3

Методы сравнения одномерных выборочных совокупностей

Две выборочные совокупности могут различаться: по среднему значению, дисперсии, асимметрии, эксцессу, моментам более высокого порядка, по любым из двух, трех, четырех параметров и даже по всем параметрам одновременно.

В практике исследований обычно оценивают значимость различных средних и дисперсий. Во многих случаях важна общая оценка: можно ли два выборочных распределения отнести к одной генеральной совокупности? Если распределения отличаются по средним и дисперсиям, то они уже заведомо относятся к различным генеральным совокупностям, но если средние и дисперсии в двух выборках оказались тождественными, то в общем случае из этого не следует, что тождественны и сами выборки. Выборки тождественны только в том случае, если распределения подчиняются нормальному закону, так как эти распределения полностью описываются двумя данными параметрами.

Сравнивать выборки можно с помощью различных критериев: параметрических (выведенных из гипотезы

нормальности распределения ошибок и нормального распределения самого объекта), непараметрических (не связанных собственно с параметрами распределения и в той или иной степени прямо использующих особенности его формы). В большинстве своем эти критерии строятся исходя из гипотезы независимости случайных событий.

Чем больше свойств распределения используется при проверке гипотезы принадлежности двух выборочных распределений к одной генеральной совокупности, тем больше мощность критерия. Если по критерию малой мощности различия между выборками не установлены, из этого не следует, что их нет вообще. Может оказаться, что, применив более мощный критерий, исследователь получит вполне надежные различия.

Параметрические критерии применимы для непрерывных распределений, подчиняющихся нормальному закону. Относительно непрерывных распределений, подчиняющихся нормальному закону, эти критерии являются наиболее мощными, но относительно всех других возможных распределений их мощность минимальна.

Рассмотрим последовательно применение различных критериев на примере сопоставления распределений двух видов дождевых червей — *Nicodrillus caliginosus* и *Octolasion lacteum* (табл. 14). В этом примере объем выборки для каждого вида одинаков (в тех случаях, когда объем выборки определяет технику расчетов, мы будем делать специальные оговорки).

Наиболее употребимым критерием для оценки различий средних является t -распределение Стьюдента:

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\Delta \bar{x}_1^2 + \Delta \bar{x}_2^2}}$$

Если t больше табличного при принятом значении α , то различия средних считаются достоверными. При выборках малого объема (до $N=10$) необходимо пользоваться таблицами. При достаточно больших выборках $t_{(\alpha=0.05)} \approx 2$; $t_{(\alpha=0.01)} = 3$.

В нашем примере $t=0,98$. Следовательно, по данному критерию средние численности отличаются недостоверно.

Достоверность различий дисперсий оценивается параметрическим V^2 — критерием при соответствующих степенях свободы $(N-1)$:

$$V = \sigma_1^2 / \sigma_2^2 = 2,58.$$

Таблица 14. Параметры распределений

Вид	\bar{x}	σ	$\bar{\Delta}_x$
<i>N. caliginosus</i>	2,16	3,07	$\pm 0,72$
<i>O. lacteum</i>	1,33	1,81	$\pm 0,45$

Полученное отношение сравнивается с табличным. При 17 степенях свободы $V_{0,05}=2,29$; $V_{0,01}=3,27$. Следовательно, есть основания утверждать, что два рассматриваемых распределения различны, так как, по крайней мере, дисперсии у них значимо отличны.

Продемонстрируем применение непараметрических критериев (Гублер, Генкин, 1969). Наиболее простой критерий проверки нулевой гипотезы — критерий знаков, основанный на подсчете однонаправленных отклонений от среднего или эффектов в связанных выборках.

Например, при сопоставлении распределений *N. caliginosus* и *O. lacteum* в 9 пробах из 18 тенденции в отклонениях совпадают. Различия можно было считать по данному критерию существенными, если бы распределения совпадали только в пяти ($\alpha=0,05$) или в трех ($\alpha=0,01$) случаях (табл. 15). Следовательно, по данному критерию различия в средних несущественны.

Наиболее мощный критерий для связанных выборок χ^2 , для применения которого расчеты выполняются в логарифмическом варианте:

$$2I = \sum x_i \ln x_i + \sum y_i \ln y_i - \sum (x_i + y_i) \ln (x_i + y_i) + (N_1 + N_2) \ln (N_1 + N_2) - N_1 \ln N_1 - N_2 \ln N_2 \approx \approx \frac{1}{N_1 N_2} \sum \frac{(N_2 x_i - N_1 y_i)^2}{x_i + y_i} = \chi^2,$$

где x_i — число особей вида x в пробе i ; y_i — число особей вида Y в пробе i ; N_1 — общее число особей вида X , N_2 — вида Y .

В распределении *O. lacteum* и *N. caliginosus* по параметрическим критериям не удалось установить различий. Для этих видов $\chi^2=76,22$ (при 17 степенях свободы). Таким образом, различия между распределением *N. caliginosus* и *O. lacteum* по территории безусловно значимы. Сущность их состоит в том, что эти два вида существенно взаимоисключают друг друга.

Таблица 15. Максимальное число знаков, при которых различия в парных сравнениях можно считать существенными при $P = 0,05$ или $P = 0,01$

n	$P_{0,05}$		n	$P_{0,01}$		n	$P_{0,05}$		n	$P_{0,01}$	
	0,05	0,01		0,05	0,01		0,05	0,01			
5	0	—	27	8	7	49	18	15	90	36	33
6	0	—	28	8	7	50	18	16	92	37	34
7	0	0	29	9	7	52	19	17	94	38	35
8	1	0	30	10	8	54	20	18	96	39	36
9	1	0	31	10	8	56	21	18	98	40	37
10	1	0	32	10	8	58	22	19	100	41	37
11	2	1	33	11	9	60	23	20	110	45	42
12	2	1	34	11	9	62	24	21	120	50	46
13	3	1	35	12	10	64	24	22	130	55	51
14	3	2	36	12	10	66	25	23	140	59	55
15	3	2	37	13	10	68	26	23	150	64	60
16	4	2	38	13	11	70	27	24	160	69	64
17	4	3	39	13	11	72	28	25	170	73	69
18	5	3	40	14	12	74	29	26	180	78	73
19	5	4	41	14	12	76	30	27	190	83	78
20	5	4	42	15	13	78	31	28	200	87	83
21	6	4	43	15	13	80	32	29	220	97	92
22	6	5	44	16	13	82	33	30	240	106	101
23	7	5	45	16	14	84	33	30	260	116	110
24	7	5	46	16	14	86	34	31	280	125	120
25	7	6	47	17	15	88	35	32	300	135	129
26	8	6	48	17	15						

Для сравнения средних тенденций в численности два распределения упорядочиваются от максимальных значений к минимальным:

<i>N. caliginosus</i>	6	3	2	2	2	2	2	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	23
<i>O. lacteum</i>	5	5	5	3	2	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	24
Сумма	11	8	7	5	4	4	3	2	1	1	1	0	0	0	0	0	0	47	

$\chi^2 = 6,6$. Очевидно, что различия средних, дисперсии и всех моментов распределений незначимы, но распределение по территории у двух сравниваемых видов значительно различно.

Таким образом, критерий χ^2 и его логарифмическую модификацию весьма удобно применять при сопоставлении распределений различных видов в одном и том же отборе проб. Столь же удобно использовать этот крите-

рий при сопоставлении территориально несопряженных выборочных распределений, но при одном и том же числе проб.

Аналогичным образом можно сравнить распределение видов или групп видов в различных пробах, взятых в одном местообитании или в двух сериях проб, принадлежащих различным выборкам. На этой основе можно в пределах одного местообитания выявить группы проб, принадлежащих к различным генеральным совокупностям и, более того, выявить, за счет каких видов или групп видов наблюдаются значимые различия.

При сравнении непрерывных выборочных распределений критерий χ^2 применяется, как и в случае проверки гипотезы принадлежности выборочного распределения к теоретическому.

ГЛАВА 4

Методы статистического исследования случайных функций

Если в достаточно большом числе случаев зависимости имеют один и тот же характер, то, даже не зная существа этого явления, мы обычно говорим об эмпирическом законе. Например, при исследовании связи числа видов S с размером острова A в подавляющем большинстве случаев функция имеет вид $S = bA^c$, причем существенный параметр функции c изменяется от места к месту и от объекта к объекту в относительно ограниченных пределах. Естественно, что этот факт вызывает интерес и заставляет искать причину такой зависимости. Путь познания природы от эмпирического закона к теоретическому, объясняющему механизмы, определяющие именно такую форму зависимости, для экологии пока наиболее типичен. Сам же эмпирический закон явно и неявно можно рассматривать как статистический, как некоторое наиболее вероятное соответствие между изучаемыми свойствами, не исключающее в принципе и существенных отклонений.

В последнее время особое значение в экологии приобретает исследование размещения видов или популяций в экологическом пространстве. Экологическое пространство обычно определяется некоторыми характеристиками среды, которые рассматриваются как факторы, а поло-

жение вида относительно этих факторов может быть определено, например, эмпирической функциональной зависимостью

На основе совокупности наблюдений можно построить функцию, ставшую в однозначное соответствие значениям y_i , принадлежащим множеству Y , значениям аргументов $x_1 \in X_1, x_2 \in X_2, \dots, x_n \in X_n$. Эта процедура называется аппроксимацией полиномом Габора-Колмогорова:

$$y = \sum_{i=1}^n \alpha x_i + \sum_{j=1}^n \sum_{l=1}^n \beta x_l x_j + \sum_{i=1}^n (x_i^2 + \sum_{j=1}^n \sum_{l=1}^n k x_i^2 x_j + \dots \\ \dots + \sum_{i=1}^n l x_i^k \dots$$

Обычно реальные зависимости, существующие в природе, не требуют применения полиномов высокой степени и оценки совместного вклада в определение состояния функции более чем двух переменных. Если для аппроксимации, обеспечивающей необходимую точность, приходится использовать полиномы очень высокой степени (больше 3) или совместный вклад нескольких переменных, то полученная функция, скорее всего, не имеет физического смысла. Но и при удовлетворительных результатах аппроксимации и при полиноме второй степени не следует, что в функции отражаются действительно существующие реальные воздействия.

Получение эмпирической функциональной зависимости правильнее рассматривать как средство обобщения материала для понимания существа исследуемого явления, которое может быть использовано для интерполяции значений исследуемого явления в области ненаблюдавшихся в эксперименте значений аргументов, но принадлежащих конечному интервалу, в пределах которого проводилось исследование, т.е. эмпирическая зависимость допускает интерполяцию, но не допускает экстраполяцию. В практике исследований обычно используют линейную часть полинома. Так как в экологии характер большинства зависимостей экспоненциальный, аргументы и функции линеаризируются операцией логарифмирования. Целесообразно сведение аппроксимирующего полинома к виду

$$y = \sum \alpha_i x_i + \sum \sum \beta_{ij} x_i x_j$$

В простейшем же случае чисто линейной модели совместный вклад аргументов может не рассматриваться. Линейные аддитивная и неаддитивная модели могут рассматриваться в качестве гипотез. В линейных аддитивных моделях случайной функции с нормальным распределением функций и аргументов и при независимых аргументах $M_y = Mx_1 + Mx_2 + \dots + Mx_n$ — с точностью до размерных коэффициентов математическое ожидание функции равно сумме математического ожидания и $\sigma_y^2 = \alpha_1 \sigma x_1^2 + \alpha_2 \sigma x_2^2 + \dots + \alpha_n \sigma x_n^2$; дисперсия Y равна сумме дисперсий X_i с соответствующими коэффициентами, отображающими вклад каждого аргумента в дисперсию функции. Эти фундаментальные свойства линейной случайной модели с нормальным распределением аргументов положены в основу дисперсионного и регрессионного анализа.

Если отношения существенно нелинейны, но аргументы имеют нормальное распределение, то используются более сложные алгоритмы дисперсионного и регрессионного анализа и в частном случае метод наименьших квадратов. Однако если распределение аргументов существенно отличается от нормального, эти методы непригодны. Предположение о нормальности позволяет ограничиваться оценкой только первых двух моментов распределения, и все методы, основывающиеся на гипотезе нормальности, автоматически неадекватны и не могут объективно отображать случайные процессы, распределенные по другим законам.

При распределениях, отличных от нормального, используются непараметрические методы оценки сопряженности функции и аргументов и приближенные методы построения функциональных зависимостей. Функции, построенные на основе приближенных методов аппроксимации, обычно обеспечивают существенно меньшую детальность описания.

Дисперсионный анализ

Каждое значение признака является результатом совместного воздействия множества факторов, каждый из которых вносит свою долю влияния при определении значения признака. Совокупное влияние факторов качественно и количественно отличается от их разобщенного влияния, а эффект воздействия любого фактора всегда зависит от множества других факторов. Для оценки влияния какого-либо фактора в сравнении с остальными используется дисперсионный анализ, принципы которого были разработаны Р. Фишером. Основные задачи дисперсионного анализа: 1) определение статистической достоверности влияния исследуемого фактора (факторов и их F взаимодействий); 2) определение относительной силы влияния каждого из факторов на изучаемый признак; 3) определение достоверности разности между уровнями силы влияния фактора.

Число изучаемых факторов и их градации задаются исследователем. Выборка объекта, обладающего изучаемым признаком, должна быть случайной по отношению к остальным, неконтролируемым факторам. Это — принцип рандомизации (от англ. random — случайный), игнорирование которого может привести к неверным выводам.

Чем больше число факторов, одновременное влияние на признак которых мы желаем изучить, тем сложнее схемы подбора данных. Наиболее простыми и в то же время употребимыми в экологических исследованиях являются однофакторный и двухфакторный дисперсионные анализы.

Однофакторный дисперсионный анализ. При однофакторном анализе отдельное значение признака можно представить в виде следующего теоретического разложения:

$$Y_{ip} = M + A_i + \epsilon_{ip},$$

где Y_{ip} — p -е значение признака, находящегося под воздействием i -й градации фактора A ; M — генеральное среднее для совокупности изучаемых значений признака; A_i — эффект i -й градации изучаемого фактора на признак; ϵ_{ip} — эффект случайного влияния неконтролируемых факторов.

Таблица 16. Однофакторный статистический комплекс

Градации фактора		y_{ip}	n_i	s_i	\bar{y}_i
A_1	$y_{11} \dots$	$\dots y_{1p}$	n_1	s_1	\bar{y}_1
A_2	$y_{21} \dots$	$\dots y_{2p}$	n_2	s_2	\bar{y}_2
A_3	$y_{31} \dots$	$\dots y_{3p}$	n_3	s_3	\bar{y}_3
			N	S	$\bar{y} = \frac{S}{N}$

Из данного изложения следует, что общее рассеяние значения признака Y_{ip} около генеральной средней M рассматривается как сумма рассеяний под воздействием изучаемого (A) и неконтролируемых факторов.

Для проведения дисперсионного анализа данные записываются в специальной табл. 16, именуемой статистическим комплексом.

Строки таблицы, соответствующие изучаемым градациям фактора, называют классами градации фактора. В левом столбце записываются названия или условные обозначения класса градации; во втором — соответствующие значения признака y_{ip} . Каждая отдельная клетка, содержащая данные, называется ячейкой статистического комплекса; в третьем столбце n_i — число значений в классе градации. Если число данных одинаково во всех классах градаций, статистический комплекс называется однородным, если нет — неоднородным. Схема расчетов однородных и неоднородных однофакторных статистических комплексов одна и та же; в четвертом столбце записываются s_i — суммы данных по классам градаций, в пятом — среднее арифметическое \bar{y}_i по классам градаций. Общее число данных в комплексе равно N , общая сумма данных — S , а общая средняя арифметическая комплекса — \bar{y} .

В однофакторном статистическом комплексе имеются два типа средних: 1) общее среднее статистического комплекса; 2) среднее для отдельных классов градаций. Эти типы средних связаны с тремя типами рассеяния в статистическом комплексе, каждому из которых соответствуют своя сумма квадратов отклонений и число степеней свободы.

1. Общее рассеяние — рассеяние значений признака y_{ip} около общей средней арифметической \bar{y} статистического комплекса. Сумма квадратов отклонений

$$Q = \sum_{ip} y_{ip}^2 - \frac{s^2}{N}; \text{ число степеней свободы } V = N - 1.$$

2. Рассеяние между классами градации. Это рассеяние средних отдельных классов градаций \bar{y}_i около общей средней статистического комплекса \bar{y} . Сумма квадратов отклонений

$$Q_A = \sum_i \frac{s_i^2}{n_i} - \frac{s^2}{N}; \text{ число степеней свободы}$$

$V_A = k - 1$, где k — число классов градаций.

3. Рассеяние внутри классов градаций. Это рассеяние значений признака внутри классов градаций около их средних \bar{y}_i . Сумма квадратов отклонений $Q_e =$

$$= \sum_{ip} (y_{ip} - \bar{y}_i)^2 = \sum_{ip} y_{ip}^2 - i^2 \bar{y}_i^2; \text{ число степеней свободы:}$$

$$V_e = N - k.$$

Для однофакторного статистического комплекса справедливы равенства: $Q = Q_A + Q_e$ и $V = V_A + V_e$. Поэтому на практике для расчета Q_e и V_e используются формулы

$$Q_e = Q - Q_A; V_e = V - V_A,$$

отчего эти величины получили название остаточной суммы квадратов и остаточного числа степеней свободы соответственно.

Достоверность влияния фактора оценивается сравнением средних сумм квадратов, получаемых при делении сумм квадратов на соответствующее число степеней свободы: $\bar{Q}_A = Q_A/V_A$; $\bar{Q}_e = Q_e/V_e$.

Согласно теории дисперсионного анализа, математическое ожидание A включает дисперсию признака, вызванную изучаемым фактором, плюс дисперсию этого признака за счет случайного воздействия неконтролируемых факторов. Математическое ожидание \bar{Q} целиком представляет собой дисперсию, вызванную случайным воздействием неконтролируемых факторов. Отношение $F = \bar{Q}_A/\bar{Q}_e$ имеет F -распределение и его используют для оценки достоверности влияния фактора. Проверяется нуль-гипотеза: средние по градациям равны ($H_0: M_1 = M_2 = \dots = M_k$). Полученное эмпирическое значение F -критерия сравнивается с теоретическим (Приложение 5), где $v_1 = v_A$, $v_2 = v_e$.

Если $F > F_{\alpha, v_1, v_2}$, нуль-гипотеза отвергается, т. е. влияние фактора статистически достоверно на уровне существенности α .

Иногда интересна относительная сила влияния фактора (по отношению к общему влиянию всех факторов). Лучшим показателем силы влияния следует считать показатель Н. А. Плохинского $\mu_A^2 = Q_A/Q$. Показатель силы влияния неконтролируемых факторов $\mu_s^2 = Q_s/Q$. Величину показателя силы влияния можно задавать также в процентах, тогда, например: $\mu_A^2 (\%) = \mu_A^2 \cdot 100$. Если влияние фактора оказалось достоверным, то и значение показателя силы влияния следует считать достоверным. Приблизительно величину репрезентативности показателя силы влияния можно рассчитать по формуле Плохинского (1970):

$$S_{\mu_A^2} = v_A \frac{\mu_s^2}{v_s}.$$

Рассмотрим пример однофакторного дисперсионного анализа на примере влияния температуры на дыхание дождевых червей *Eisenia nordenskioldi* на Таймыре¹. Дыхание изучалось при трех градациях температуры: 4, 8, 12° С. Из всего собранного материала случайно отобраны три группы по 30 особей в каждой (всего 90 червей). Был составлен однофакторный статистический комплекс (табл. 17).

В основе дисперсионного анализа лежит ряд предположений, важнейшими из которых являются следующие: 1) дисперсии данных по отдельным классам градаций равны; 2) распределение данных соответствует нормальному. Нарушение этих предположений приводит к неправильным результатам при дисперсионном анализе.

Для проверки достоверности разности дисперсий используется критерий Бартлета. Для этого вычисляется эмпирическое значение χ^2 :

$$\chi^2 = \frac{2 \cdot 3026}{c} \left[\lg \bar{Q}_s \sum_i (n_i - 1) - \sum_i (n_i - 1) \lg \left(\frac{Q_i}{n_i - 1} \right) \right],$$

где $C = 1 + \frac{1}{3(k-1)} \sum_i \frac{1}{n_i - 1} - \frac{1}{\sum_i (n_i - 1)}$; $\bar{Q}_s = \sum_i \times$

$$\times \frac{Q_i}{(n_i - 1)}; \bar{Q}_i = \sum x_{ij}^2 - \frac{s_i^2}{n_i}.$$

¹ Данные Ю. Б. Бызовой.

Для данного статистического комплекса

$$Q_1 = (24,6^2 + \dots + 19,1^2) - \frac{446,3^2}{30} = 1238,814.$$

$$Q_2 = (7,6^2 + \dots + 22,3^2) - \frac{394,7^2}{30} = 986,174.$$

$$Q_3 = (15,7^2 + \dots + 34,0^2) - \frac{890,8^2}{30} = 3240,199.$$

$$\bar{Q}_r = \frac{1238,814 + 986,174}{(30-1) + (30-1)} - \frac{3240,199}{(30-1)} = 62,818.$$

$$C = 1 + \frac{1}{3(3-1)} \left[\frac{1}{30-1} + \frac{1}{30-1} + \frac{1}{30-1} - \frac{1}{(30-1) + (30-1) + (30-1)} \right] = 1,019.$$

$$\chi^2 = \frac{2,3026}{1,019} \left\{ \lg 62,818 [(30-1) + (30-1) + (30-1)] - \right. \\ \left. - \left[(30-1) \lg \frac{1238,814}{30-1} + (30-1) \lg \frac{986,174}{30-1} + \right. \right. \\ \left. \left. + (30-1) \lg \frac{3240,199}{30-1} \right] \right\} = 12,05.$$

Проверяется нуль-гипотеза дисперсии по классам градации однородны ($H_0; \sigma_1^2 = \sigma_2^2 = \dots = \sigma_h^2$). Полученное эмпирическое значение χ^2 сравнивают с теоретическим (Приложение 2) при $\alpha=0,05$ и $V=k-1$ степеней свободы. Если $\chi^2 \geq \chi_{\alpha, V}^2$ то на уровне существенности можно утверждать, что дисперсии по меньшей мере для двух

Таблица 17. Однофакторный статистический комплекс для дисперсионного анализа влияния температуры на интенсивность дыхания дождевых червей *Eisenia nordenskiöldi*; ($N = 90$; $S = 1731,8$; $y = 19,2$)

Температура, °С	Интенсивность дыхания <i>E. nordenskiöldi</i> (г/греб. тене ки тор. да, мм ³ /ч)							
4	24,6	5,8	27,0	7,0	16,4	10,8	26,0	9,0
	4,7	8,8	16,1	10,6	12,3	14,4	12,4	11,0
8	7,6	22,7	10,3	8,1	20,7	4,9	6,8	23,0
	12,9	9,4	10,4	9,2	21,4	10,4	14,0	18,1
12	15,7	26,8	13,7	16,8	12,0	16,3	22,6	22,7
	32,7	26,2	48,2	30,2	49,0	40,8	20,3	29,8

классов градаций достоверно различаются. В нашем примере $\chi^2 = 12,05 > \chi_{0,05}^2 = 5,99$. Следовательно, дисперсии внутри классов градации неоднородны.

Для проверки нормальности распределения данных в статистическом комплексе можно также выбрать способ преобразования данных, если распределение не соответствует нормальному. Индекс дисперсии (ИД) равен отношению общей суммы квадратов отклонений к общей средней арифметической статистического комплекса: $ИД = Q/\bar{y}$.

Величину ИД сравнивают с критическим значением $\chi_{\alpha;V}^2$ при $\alpha = 0,05$ и $\alpha = 0,95$. Число степеней свободы $V = N - 1$. Способ преобразования данных выбирается согласно результату сравнения (табл. 18). Если данные представляют собой проценты, для их преобразования рекомендуется использовать формулу $y^1 = \arcsin \sqrt{x\%}$. Преобразование в арксинусы необходимо, если размах между отдельными датами превышает 40%. В Приложении 6 имеются таблицы для проведения преобразования долей в арксинусы. В нашем примере

$$Q = (24,6^2 + \dots + 34,0^2) = \frac{1731,8^2}{90} = 10\,424,72.$$

$$ИД = \frac{10\,424,72}{19,2} = 542,95.$$

Это значение значительно превышает

$$\chi_{0,05;90}^2 = 113,14.$$

Приблизительно будем считать $V = 90$. Следовательно, распределение данных нельзя считать нормальным. Необходимое преобразование — $y_i^1 = \lg y_i$. Снова составляем статистический комплекс, но вместо данных в ячейках записываем их логарифмы (табл. 19).

Интенсивность дыхания E. nordenskioldi (потребление кислорода, мм ³ /ч)							n_i	s_i	\bar{y}_i
22,0	6,2	17,7	5,7	9,9	12,5	24,7	30	446,3	14,9
15,4	18,0	15,5	19,4	21,6	20,9	19,1			
23,0	10,7	8,8	9,3	10,4	15,6	4,2	30	394,7	13,2
7,1	10,5	12,1	19,1	19,1	12,6	22,3			
29,4	24,4	25,1	32,9	27,7	29,8	22,4	30	890,8	29,7
41,6	48,2	47,2	34,8	28,8	40,7	34,0			

Таблица 18. Выбор способа преобразования данных по методу индекса дисперсии (ИД) *

ИД	ИД $< \chi^2_{0,95}$	$\chi^2_{0,95}; V < \text{ИД} < \chi^2_{0,75}$	ИД $> \chi^2_{0,05}$
Распределение	Нормальное	Пуассона	Перерасеянное асимметрическое
Преобразование		$x_i^1 = \sqrt{x_i}$	$x_i^0 = \lg x_i$

* Если в статистическом комплексе имеются значения, равные 0, то $x_i^1 = \sqrt{x_i + 0,05}$;
 $x_i^0 = \lg(x_i + 1)$.

Таблица 19. Однофакторный статистический комплекс для дисперсионного анализа влияния температуры на интенсивность дыхания дождевых червей *E. podenskioldi* (данные преобразованы по формуле $y_i^1 = \lg y_i$)

Температура, °С	Интенсивность дыхания (в lg)	n_i	s_i	\bar{y}_i
4	1,391...1,281	30	33,773	1,126
8	0,881...1,348	30	32,275	1,076
12	1,196...1,531	30	43,321	1,444
		$N=90$	$S=109,369$	$\bar{y}=1,215$

Для экономии места в табл. 19 не включены все преобразования, а только первое и последнее значения для каждого класса градации.

Проверим снова статистический комплекс на неоднородность дисперсии по критерию Бартлетта:

$$\chi^2 = 2,09 < \chi^2_{0,05;2} = 5,99.$$

Следовательно, нуль-гипотеза о равенстве дисперсий принимается.

Рассчитаем общую сумму квадратов отклонений:

$$Q = (1,391^2 + \dots + 1,531^2) = \frac{109,369^2}{90} = 138,596 - \\ - 132,906 = 5,690.$$

Находим индекс дисперсии: ИД=4,683. Это значение меньше $\chi^2_{0,05,90} = 69,13$. Следовательно, распределение данных в статистическом комплексе можно считать нор-

мальным. Продолжаем дисперсионный анализ.

$$Q_{\text{темп.}} = \frac{33,773^2}{30} + \frac{32,275^2}{30} + \frac{43,321^2}{30} + \frac{109,369^2}{90} = 2,394.$$

$$Q_{\varepsilon} = 5,690 - 2,394 = 3,296.$$

Находим числа степеней свободы:

$$V = 90 - 1 = 89; \quad V_{\text{темп.}} = 3 - 1 = 2;$$

$$V_{\varepsilon} = 89 - 2 = 87$$

и средние суммы квадратов отклонений:

$$\bar{Q}_{\text{темп.}} = 2,394/2 = 1,197; \quad \bar{Q}_{\varepsilon} = 3,296/87 = 0,038.$$

Эмпирическое значение F -критерия: $F = 1,197/0,038 = 31,5$. Показатели силы влияния факторов:

$$\mu_{\text{темп.}}^2 = \frac{2,394}{5,690} = 0,421, \quad \text{или } 42,1\%.$$

$$\mu_{\varepsilon}^2 = 1 - 0,421 = 0,579, \quad \text{или } 57,9\%.$$

Все результаты дисперсионного анализа удобно свести в общую таблицу (табл. 20). В последние два столбца табл. 20 записывают также теоретические значения F -критерия. Видно, что эмпирическое значение F -критерия значительно превышает теоретическое (даже при этом заниженном числе степеней свободы) и влияние температуры на скорость дыхания дождевых червей (в пределах заданных градаций температуры) достоверно на уровне существенности $\alpha = 0,01$. Сила влияния фактора «температура» на скорость дыхания дождевых червей в данном статистическом комплексе составляет около 42% от общего влияния всех факторов. Ошибка репрезентативности показателя силы влияния:

$$S\mu_{\text{темп.}}^2 = 2 \frac{0,579}{87} = 0,01; \quad \mu_{\text{темп.}}^2 = 0,42 \pm 0,01.$$

Если влияние фактора оказалось статистически достоверным, из этого следует, что по меньшей мере между двумя средними классами градаций имеется достоверная разность (обратное утверждение не всегда верно). В тех случаях, когда необходимо выявить, за счет каких именно градаций фактора его влияние оказалось достоверным, используется ряд критериев, наиболее употребимым из которых является критерий Дункана. В случае неоднородных статистических комплексов рекомендуется использовать F -критерий (Плохинский, 1970).

Таблица 20. Таблица результатов 'однофакторного дисперсионного анализа по изучению влияния температуры на интенсивность дыхания дождевых червей *E. nordenskioldi*

Рассеяние	Q	$\mu^2, \%$	V	\bar{Q}	F	$F_{0,95; 2, 89}$	$F_{0,01; 2, 89}$
Общее ¹	5,690	1000,0	89				
Фактора «температура»	2,394	42,1	2	1,197	31,5	3,15	4,98
Остаточное	3,296	57,9	87	0,038			

Двухфакторный дисперсионный анализ. При двухфакторном дисперсионном анализе общее рассеяние значений признака y_{ijp} около генеральной средней M рассматривается как сумма рассеяний за счет изучаемых факторов (A и B), их взаимодействия (1) и неконтролируемых факторов.

Данные записываются в таблицу — двухфакторный статистический комплекс (табл. 21). Данный комплекс имеет два класса градаций для фактора A ($k=2$) и два класса градаций для фактора B ($m=2$). Таким образом, комплекс имеет четыре ячейки, в которых записаны данные. В правый угол каждой ячейки записывается число данных (n_{ij}) и сумма данных (S_{ij}) в данной ячейке.

Если число данных во всех ячейках статистического комплекса одинаково, комплекс называется равномерным. Если число данных в ячейках неодинаково, но тем не менее соблюдаются определенные пропорции (табл. 22), то такой комплекс называется пропорциональным. Равномерные и пропорциональные комплексы ортогональны. Если хотя бы одно из равенств, записанных под таблицей, не исполняется, комплекс называется неравномерным.

Условия пропорциональности:

$$1) n_{11} : n_{12} = n_{21} : n_{22} = n_{31} : n_{32};$$

$$2) n_{11} : n_{21} = n_{31} : n_{12} = n_{22} : n_{32}.$$

В неравномерных статистических комплексах нарушается правило слагаемости эффектов факторов и для проведения расчетов здесь необходимо применять другие методы (Weber, 1967; Плохинский, 1981) и неравномерности. На практике исследования всегда надо ста-

Таблица 21. Схема рабочей таблицы двухфакторного дисперсионного анализа

Фактор A	Фактор B		n_{ij}	S_{ij}	Y_{ij}
	B_1	B_2			
A_1	$Y_{111} \dots Y_{11p}$ $\begin{matrix} n_{11} \\ S_{11} \end{matrix}$	$Y_{121} \dots Y_{12p}$ $\begin{matrix} n_{12} \\ S_{12} \end{matrix}$	Σn_{1j}	ΣS_{1j}	$\frac{\Sigma S_{1j}}{\Sigma n_{1j}}$
A_2	$Y_{211} \dots Y_{21p}$ $\begin{matrix} n_{21} \\ S_{21} \end{matrix}$	$Y_{221} \dots Y_{22p}$ $\begin{matrix} n_{22} \\ S_{22} \end{matrix}$	Σn_{2j}	ΣS_{2j}	$\frac{\Sigma S_{2j}}{\Sigma n_{2j}}$
n_j	Σn_{i1}	Σn_{i2}	N		
S_j	ΣS_{i1}	ΣS_{i2}		S	
Y_j	$\frac{\Sigma S_{i1}}{\Sigma n_{i1}}$	$\frac{\Sigma S_{i2}}{\Sigma n_{i2}}$			$y = \frac{S}{N}$

Таблица 22. Схема пропорционального двухфакторного статистического комплекса

A	B	
	B_1	B_2
A_1	n_{11}	n_{12}
A_2	n_{21}	n_{22}
A_3	n_{31}	n_{32}

раться организовать так, чтобы полученные статистические комплексы были ортогональными. В этом руководстве приведем схему расчетов только для ортогональных комплексов.

Значения n_{ij} , S_{ij} для классов градаций фактора A получают путем суммирования значений в углах ячеек (n_{ij} , S_{ij}) по горизонтали, соответствующие величины для фактора B — путем суммирования этих же значений по вертикали. Общее число данных в статистическом комплексе N , а также общая сумма данных S должны полу-

чаться путем сложения как n_i и S_i , так и n_j и S_j , соответственно. При совпадении результатов статистический комплекс составлен правильно. Последними в статистический комплекс записываются средние арифметические для классов градаций \bar{y}_i , \bar{y}_j и общее среднее комплекса \bar{y} .

В двухфакторном статистическом комплексе различают четыре типа средних: 1) среднее арифметическое ячейки \bar{y}_{ij} ; 2) среднее арифметическое класса градаций фактора A \bar{y}_i ; 3) среднее арифметическое класса градаций фактора B \bar{y}_j ; 4) общее среднее статистического комплекса \bar{y} . Упомянутые типы средних связаны с пятью типами рассеяния в статистическом комплексе.

1. Общее рассеяние. Общая сумма квадратов отклонений

$$Q = \sum_{ijp} (y_{ijp} - \bar{y})^2 = \sum_{ijp} y_{ijp}^2 - \frac{S^2}{N}.$$

Соответствующее число степеней свободы: $V = N - 1$.

2. Рассеяние между классами градаций фактора A . Это рассеяние средних классов градаций фактора A \bar{y}_i около общей средней арифметической \bar{y} . Сумма квадратов отклонений

$$Q_A = \sum_i n_i (\bar{y}_i - \bar{y})^2 = \sum_i \frac{S_i^2}{n_i} - \frac{S^2}{N}.$$

Число степеней свободы $V_a = k - 1$.

3. Рассеяние между классами градаций фактора B . Это рассеяние средних классов градаций факторов B y_j около средней арифметической \bar{y} . Сумма квадратов отклонений

$$Q_B = \sum_j n_j (\bar{y}_j - \bar{y})^2 = \sum_j \frac{S_j^2}{n_j} - \frac{S^2}{N}.$$

Число степеней свободы $V_B = m - 1$.

4. Рассеяние за счет взаимодействия факторов. Действие каждого фактора в двухфакторном комплексе изучается при усредненном влиянии другого фактора и усредненном воздействии всех остальных, неконтролируемых факторов. Влияние сочетания градаций обоих факторов возникает вследствие того, что один фактор часто действует различно при разных градациях другого. Соответствующая сумма квадратов отклонений получается при вычитании из рассеяния за счет средних ячеек

\bar{y}_{ij} около общей средней $(\bar{Y}_{ij} - \bar{y})$ обеих факториальных компонент рассеяния $(\bar{Y}_i - \bar{y})$ и $(\bar{Y}_j - \bar{y})$:

$$Q_{AB} = \sum_{ij} n_{ij} (\bar{y}_{ij} - \bar{y}_i - \bar{y}_j + \bar{y})^2 = \sum_{ij} \frac{S_{ij}^2}{n_{ij}} - \frac{S^2}{N}.$$

Число степеней свободы $V_{AB} = V_A V_B$.

5. Рассеяние внутри ячеек. Это рассеяние данных внутри ячеек статистического комплекса около средних этих ячеек. Сумма квадратов отклонений

$$Q_s = \sum_{ijp} (y_{ijp} - \bar{y}_{ij})^2 = \sum_{ijp} y_{ijp}^2 - \sum_{ij} \frac{S_{ij}^2}{n_{ij}}.$$

Число степеней свободы $V_s = N - km$.

Для ортогонального двухфакторного статистического комплекса справедливо равенство $Q = Q_A + Q_B + Q_{AB} + Q_s$. Поэтому на практике значения Q_s и V_s удобнее рассчитать по формулам $Q_s = Q - (Q_A + Q_B + Q_{AB})$; $V_s = V - (V_A + V_B + V_{AB})$.

Для оценки достоверности влияния факторов и их взаимодействия достаточно рассчитать следующие средние суммы квадратов:

$$\begin{aligned} \bar{Q}_A &= Q_A/V_A; & \bar{Q}_B &= Q_B/V_B; \\ \bar{Q}_{AB} &= Q_{AB}/V_{AB}; & Q_s &= Q_s/V_s. \end{aligned}$$

Согласно теории дисперсионного анализа, математическое ожидание \bar{Q}_A и \bar{Q}_B включает дисперсии признака, вызванные изучаемым фактором плюс неконтролируемыми факторами. Математическое ожидание \bar{Q}_{AB} включает дисперсию признака за счет взаимодействия факторов плюс случайную дисперсию. Математическое ожидание V_s целиком представляет собой случайную дисперсию. Поэтому отношение любых из связанных с влиянием факторов средних сумм квадратов к средней сумме квадратов \bar{Q}_s , содержащей только случайную дисперсию, имеет F -распределение. Достоверность влияния факторов проверяют, сравнивая эмпирическое значение F (\bar{Q}_A/Q_s ; \bar{Q}_B/Q_s ; \bar{Q}_{AB}/Q_s) с табличным F_{α, v_1, v_2} (Г. Корн, Т. Корн, 1984) при выбранном уровне существенности α и степенях свободы $V_1 = V_{\text{фактора}}$; $V_2 = V_s$. Если $F > F_{\alpha, v_1, v_2}$, влияние соответствующей компоненты достоверно на данном уровне существенности.

Показатели силы влияния можно рассчитать по следующим формулам:

$$\eta_A^2 = Q_A/Q; \quad \eta_B^2 = Q_B/Q;$$

$$\eta_{AB}^2 = Q_{AB}/Q; \quad \eta_g^2 = Q_g/Q.$$

Стандартные ошибки для первых трех показателей силы влияния можно рассчитать по следующим приближенным формулам, предложенным А. Н. Плохинским:

$$S_{\eta_A^2} = V_A \frac{\eta_A^2}{V_g}; \quad S_{\eta_B^2} = V_B \frac{\eta_B^2}{V_g};$$

$$S_{\eta_{AB}^2} = N_{AB} \frac{\eta_{AB}^2}{V_g}.$$

Важную роль в дисперсионном анализе играет остаточное рассеяние. Чем меньше \bar{Q}_e по отношению к средним квадратам факторов, тем более вероятно то, что влияния факторов статистически достоверны. При одном и том же размахе рассеяния и одном и том же числе градаций в статистическом комплексе \bar{Q}_e будет тем меньше, чем больше число данных. Вообще число остаточных степеней свободы в статистическом комплексе не должно быть меньше десяти ($V_g \geq 10$). Другой путь уменьшения \bar{Q}_e — за счет введения дополнительного организованного фактора в статистический комплекс. При введении в однофакторный комплекс дополнительного фактора (веса дождевых червей) и выполнении двухфакторного дисперсионного анализа величина \bar{Q}_e уменьшилась больше чем в 2 раза. Уменьшение \bar{Q}_e обычно приводит также к увеличению эмпирических критериев при оценках достоверности разностей между средними классами градаций. Для проверки достоверности этих разностей в равномерном двухфакторном статистическом комплексе также можно использовать критерий Дункана.

Корреляционный анализ

Биологические объекты характеризуются множеством количественных и качественных признаков, которые могут быть зависимые и независимые. Зависимость может быть функциональной или стохастической (коррелятивной). При функциональной зависимости значениям одного признака соответствуют строго определенные значения другого признака (алгебраические и геометрические зависимости). Для биологических объектов функциональная зависимость не является характерной.

Стохастической (коррелятивной) называется такая зависимость признаков, при которой какому-либо определенному значению одного признака соответствует целый интервал значений другого признака, т. е. среднее арифметическое этого интервала значений. Коррелятивная зависимость наиболее характерна для биологических объектов. При изучении зависимостей между признаками приходится выделять из всей их совокупности только определенную группу и проводить изучение связей только в пределах этой группы признаков.

Наиболее упрощенной является группа, содержащая два признака. Корреляцию между парой признаков изучает парный (двумерный) корреляционный анализ. Корреляцию одного признака одновременно с двумя или большим числом других признаков изучает многомерный корреляционный анализ. Парный корреляционный анализ по существу не отражает истинную тесноту связей между изучаемыми признаками, поскольку эта связь зависит одновременно от множества других признаков. Существует метод корреляционного анализа, позволяющий при определении корреляции между признаками исключить влияние на эту связь других признаков. Подобная корреляция носит название частной корреляции.

Корреляционный анализ изучает лишь степень связей между признаками. Причинно-следственные отношения можно определить только путем логического анализа. Иногда трудно определить, который из признаков является факториальным, а который зависимым (например, два конкурирующих вида). Иногда можно обнаружить корреляцию между признаками, которые не имеют логической связи. Подобная корреляция называется ложной. Но ложные корреляции следует отличить от корреляций,

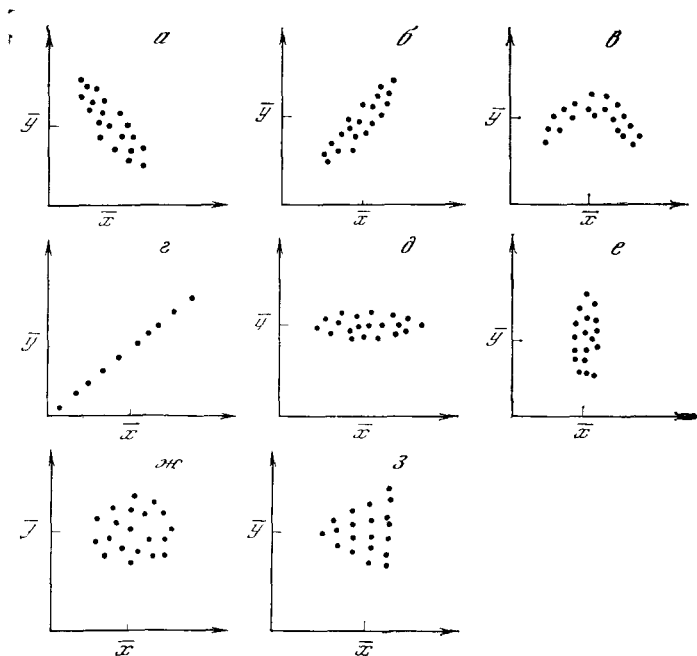


Рис. 49. Корреляционные диаграммы

a — линейная отрицательная корреляция *б* — линейная положительная корреляция, *в* — нелинейная корреляция, *г* — функциональная линейная зависимость *д* — *з* — изображения корреляционного поля при отсутствии корреляции. \bar{x} — среднее арифметическое факториального признака, \bar{y} — среднее арифметическое зависимого признака

в основе которых лежат очень отдаленные причинно-следственные отношения

При парном корреляционном анализе тесноту связи можно оценить графически по корреляционной диаграмме или с помощью коэффициентов корреляции

Если отложить значения факториального признака на оси X , а значения зависимого признака на оси Y , то каждой паре значений на плоскости координат будет соответствовать точка. Совокупность точек называется корреляционным полем. По очертаниям корреляционного поля можно получить представление о характере корреляции о ее тесноте (рис 49). Если корреляционное поле образует вытянутый эллипс, главная ось которого непараллельна осям координат (рис 49, *a*, *б*), корреляцию можно считать линейной. Линейная корреляция может

быть положительной или отрицательной (рис. 49, а, б). В случае криволинейной корреляции точки группируются около какой-либо кривой (рис. 49, в). Чем теснее точки группируются около какой-либо линии, тем теснее корреляция. В предельном случае все точки расположены на прямой или на кривой и зависимость функциональна (рис. 49, а).

Наиболее распространенным показателем при изучении линейной корреляции является коэффициент корреляции Пирсона. Если значения признаков (или одного из них) являются качественными, используются непараметрические показатели связи, например коэффициент корреляции рангов Спирмена. В экологических исследованиях используется также ряд специфических показателей связи, разработанных в основном для альтернативных данных (коэффициент Коула, трансформированный коэффициент Даиса и др.). Для изучения нелинейной коррелятивной связи используется корреляционное отношение.

Измерение связи при линейной зависимости. Количественной оценкой тесноты связи линейной зависимости является коэффициент корреляции Пирсона

$$r = \frac{\sum (x_j - \bar{x})(y_j - \bar{y})}{n S_x S_y},$$

где x_j, y_j — выборочные значения факториального и зависимого признаков соответственно; \bar{x}, \bar{y} — выборочные средние арифметические для факториального и зависимого признаков соответственно;

$$S_x = \sqrt{\frac{\sum (x_j - \bar{x})^2}{n}} \quad \text{и} \quad S_y = \sqrt{\frac{\sum (y_j - \bar{y})^2}{n}}$$

— смещенные среднеквадратические отклонения факториального и зависимого признаков; n — число пар значений x_j, y_j .

Если исключить из формулы среднеквадратические отклонения, получаем коэффициент ковариации, величина которого в отличие от r зависит от дисперсии признаков. Этот коэффициент имеет важное значение в многомерных методах анализа связей между признаками (анализ главных компонент, множественный регрессивный анализ и др.).

Коэффициент корреляции — безразмерная величина, численные значения которой находятся в пределах $-1 \leq r \leq 1$. Чем теснее связь между изучаемыми признаками, тем больше абсолютное значение r . В случае отсутствия линейной связи между признаками $r=0$; r положительно, если при увеличении x_i значение y_j также увеличивается; r отрицательно, если при увеличении x_i значение y_j уменьшается. Следует заметить, что численное значение r не меняется, если поменять местами признаки x и y , что особенно важно в тех случаях, когда трудно определить причинно-следственные отношения между признаками.

Для расчета коэффициента корреляции на практике более удобна следующая формула:

$$r = \frac{\sum_j x_j y_j - \frac{\sum_j x_j \sum_j y_j}{n}}{\sqrt{\left[\sum_j x_j^2 - \frac{(\sum_j x_j)^2}{n} \right] \left[\sum_j y_j^2 - \frac{(\sum_j y_j)^2}{n} \right]}}$$

Измерение тесноты связи при нелинейной зависимости. Использование коэффициента корреляции в качестве меры тесноты связи между признаками при их нелинейной зависимости всегда занижает оценку тесноты связи, так как r измеряет только линейную компоненту. Квадрат коэффициента корреляции (r^2) называется коэффициентом детерминации (Д). Значение Д показывает, какую долю в общем варьировании значений зависимого признака имеет линейная компонента. В случаях, когда линейная компонента приближается к нулю, использование коэффициента корреляции может привести к неверному выводу об отсутствии статистически достоверной связи между изучаемыми признаками.

Для характеристики тесноты связи при нелинейных зависимостях используется корреляционное отношение η . Корреляционное отношение можно рассчитать только для сгруппированных в классы данных, когда каждому значению признака x соответствуют два или больше значений y . При этом значения факториального признака сами по себе в расчетах не используются. Корреляционное отношение представляет собой квадратный корень из отношения, числитель которого — сумма квадратов от-

клонений групповых средних \bar{y}_i от общего среднего по группам \bar{y} , а знаменатель — сумма квадратов отклонений отдельных значений y_i от общего среднего арифметического \bar{y} .

$$\eta_{y/x} = \frac{\sum_i (\bar{y}_i - \bar{y})^2}{\sum_j (\bar{y}_j - \bar{y})^2},$$

где n_i — число значений в i -й группе. Квадрат корреляционного отношения $\eta^2_{y/x}$ идентичен показателю силы влияния фактора. Корреляционное отношение — всегда положительное число и принимает значения в интервале $0 \leq \eta \leq 1$.

Для расчетов $\eta_{y/x}$ удобнее пользоваться формулой, полученной путем алгебраических преобразований:

$$\eta_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum_j \frac{S_i^2}{n_i} - \frac{S^2}{N}}{\sum_j y_j^2 - \frac{S^2}{N}}}.$$

Рассмотрим расчет корреляционного отношения на примере распределения коллембол *Megalothorax minimus* в зависимости от кислотности почвы в березняке-кисличнике. Кислотность почвы изменена вследствие ее загрязнения атмосферными выбросами. Учеты коллембол проводились на 30 пробных площадях, расположенных на разном расстоянии от источника эмиссии. Данные учетов сведены в табл. 23.

Зависимость y от x нелинейна, так как $ID = 164,09 > \chi^2_{0,01;30} = 42,56$. Поскольку данные содержат значение «0», для их преобразования используем формулу $y^t = \lg(y+1)$.

Для расчета корреляционного отношения данные необходимо сгруппировать. Величину классового интервала значений x определяли по формуле Штюрреса

$$l_x = \frac{x_{\max} - x_{\min}}{1 + 3,32 \cdot 30} = \frac{8,0 - 4,9}{1 + 3,32 \cdot 30} = 0,52.$$

Составляем таблицу для группировки данных (табл. 24) (использованы преобразованные значения y_i).

Таблица 23. Кислотность почвы (pH_{KCl}) и число коллембол *M. minutus* (в экз/100 см²) на 30 пробных площадях березняка-кисличника (данные В. П. Мелещиса)

Номер площади			Номер площади			Номер площади		
	pH	Число <i>M. minutus</i>		pH	Число <i>M. minutus</i>		pH	Число <i>M. minutus</i>
1	4,9	5	11	6,8	26	21	7,5	44
2	5,4	0	12	6,8	19	22	7,5	12
3	5,8	4	13	7,0	10	23	7,6	21
4	5,8	14	14	7,0	28	24	7,6	29
5	6,0	22	15	7,1	10	25	7,7	22
6	6,0	18	16	7,1	22	26	7,9	25
7	6,1	11	17	7,3	24	27	7,9	6
8	6,3	10	18	7,3	12	28	7,9	26
9	6,4	16	19	7,4	32	29	8,0	9
10	6,9	26	20	7,5	36	30	8,0	13

Таблица 24. Распределение по классам значений численностей (логарифмов) *M. minutus* при разделении интервала значений pH на равные классовые интервалы

Классовый интервал I_x	Среднее значение класса \bar{x}_i	y_i^1						
4,90.. 5,42	5,16	0,778						
5,43...5,95	5,69	0,699	1,176					
5,96 ..6,48	6,22	1,362	1,279	1,079	1,041	1,230		
6,49...7,01	6,75	1,431	1,431	1,301	1,041	1,462		
7,02.. 7,54	7,28	1,041	1,362	1,398	1,114	1,519	1,568	1,653
7,55...8,06	7,81	1,342	1,477	1,362	1,415	0,845	1,431	1,000

Корреляционное отношение:

$$\eta_{y/x} = \sqrt{\frac{\frac{0,778^2}{2} + \dots + \frac{10,018^2}{8} - \frac{36,098^2}{30}}{(0,778^2 + \dots + 1,146^2) - \frac{36,098^2}{30}}} = 0,749.$$

Коэффициент корреляции r , рассчитанный между средними классов \bar{x}_i и соответствующими преобразованными данными y_i^1 (пары $x_i - y_i^1$ в данном случае должны

быть следующего вида: 6,16—0,778; 5,16—0; 5,69—0,699; 5,69—1,176 и т. д.), $r=0,544$ (см.: Измерение связи при линейной зависимости). Линейной компонентой объясняется только около 30% ($D=r^2=0,269$) общего варьирования, в то время как включение нелинейной компоненты связи позволяет объяснить 56% общего варьирования данных ($\eta^2=0,561$). Таким образом, использование коэффициента корреляции в данном случае привело бы к заниженной оценке тесноты связи.

Разность между абсолютным значением r и значением η' характеризует степень нелинейности связи. Поскольку мы всегда имеем дело с выборочными значениями этих показателей, нельзя ожидать их полного равенства даже при линейной зависимости. Достоверность их разности, т. е. нуль-гипотезу о линейности связи, можно проверить по критерию Фишера

$$F = \frac{(n-k)(\eta_{y/x} - r^2)}{(k-2)(1-\eta_{y/x}^2)}$$

при степенях свободы $V_1=k-2$ и $V_2=n-k$. Если F_{α, v_1, v_2} на принятом уровне существенности α , связь следует считать нелинейной. В нашем примере

$$F = \frac{(30-6)(0,749^2 - 0,544^2)}{(6-2)(1-0,749^2)} = 3,622,$$

$F > F_{0,05, 4, 24} = 2,78$. Поэтому с вероятностью ошибки $\alpha = 0,05$ связь следует считать нелинейной, что подтверждает ранее высказанное предположение.

Достоверность корреляционного отношения также проверяют по критерию Фишера:

$$F = \frac{\eta_{y/x}^2(n-k)}{(1-\eta_{y/x}^2)(K-1)}$$

при степенях свободы $V_1=k-1$ и $V_2=n-k$. В нашем примере

$$F = \frac{0,749^2(30-6)}{(1-0,749^2)(6-1)} = 6,133,$$

$F > F_{0,01, 5, 24} = 3,90$, следовательно, с вероятностью ошибки $\alpha = 0,01$ значение $\eta_{y/x} = 0,75$ достоверно.

Недостатком определения тесноты связи с использованием корреляционного отношения является зависимость его значения от числа классов и распределения числа данных по этим классам.

Коэффициент частной корреляции. Если приводится одновременно контроль нескольких признаков и вычисляются коэффициенты корреляции попарно между этими признаками, то возможно определить корреляцию между каждым двумя признаками при устранении влияния какого-либо одного, двух или всех остальных (контролируемых) признаков. Подобная корреляция называется частной корреляцией. Коэффициент частной корреляции:

$$r_{12.34,\dots,k} = \frac{r_{12} - r_{1k.34} r_{2k.34}}{(1 - r_{1k.34}^2)(1 - r_{2k.34}^2)}$$

В данной формуле $r_{12.34,\dots,k}$ — коэффициент корреляции между 1-м и 2-м признаками (условно) при устранении влияния 3, 4, ..., k -го признаков; $r_{12.34,\dots,k-1}$ — коэффициент корреляции между 1-м и 2-м признаками при устраненном влиянии 3, 4, ..., $(k-1)$ -го признаков и т. д.

Таким образом, цифры, стоящие перед точками, являются обозначениями тех признаков, между которыми коэффициент вычисляется, а цифры, стоящие за точкой — обозначениями признаков, влияние которых устраняется. Число устраняемых признаков определяет порядок коэффициента частной корреляции. На практике наиболее часто используется частный коэффициент корреляции первого порядка: $r_{12.3}$; $r_{13.2}$ и $r_{23.1}$. Формулы для их расчета следующие:

$$r_{12.3} = \frac{r_{12} - r_{13}r_{23}}{(1 - r_{13}^2)(1 - r_{23}^2)};$$

$$r_{13.2} = \frac{r_{13} - r_{12}r_{23}}{(1 - r_{12}^2)(1 - r_{23}^2)};$$

$$r_{23.1} = \frac{r_{23} - r_{13}r_{12}}{(1 - r_{13}^2)(1 - r_{12}^2)}.$$

Применение коэффициентов частной корреляции более высокого порядка ограничивает требование линейности парных зависимостей между признаками, что в экологии часто нарушается. Чем выше порядок коэффициента частной корреляции, тем большее влияние оказывает нелинейность

Оценка достоверности коэффициентов частной корреляции и их сравнение в принципе проводятся так же,

Таблица 25. Матрица коэффициентов корреляции между шестью признаками

Признаки	1	2	3	4	5	6
1. <i>I. notabilis</i>	—	0,43	0,25	0,35	0,37	0,30
2. <i>F. mirabilis</i>	—	—	0,43	0,70	0,42	0,41
3. <i>T. krausbaueri</i>	—	—	—	0,24	0,00	0,35
4. <i>M. minimus</i>	—	—	—	—	0,37	0,25
5. Толщина слоя органики	—	—	—	—	—	0,31
6. Влажность	—	—	—	—	—	—

как и для парного коэффициента корреляции. В качестве примера приводится анализ влияния некоторых экологических факторов на распределение численностей коллембол в лесной подстилке (Poole, 1961, 1962). Определялась численность особей в пробах четырех видов коллембол: *Isotoma notabilis*, *Friesea mirabilis*, *Tullbergia krausbaueri*, *Megalothorax minimus*. Для каждой пробы определялись также толщина органического слоя и его влажность, что эти экологические факторы определяют распределение численности коллембол. Вычислялись коэффициенты корреляции (табл. 25) для всех пар признаков.

Следует заметить, что для корреляционных матриц непригодны обычные методы оценки достоверности коэффициентов корреляции. Уровень существенности $\alpha = 0,05$ означает, что в 5% случаев коэффициент корреляции, оцененный как достоверный, на самом деле равен нулю. Это означает, что из каждых 20 признанных достоверными коэффициентов корреляции в матрице один на самом деле равен нулю, но какой именно — неизвестно.

Учитывая это, при рассмотрении корреляционных матриц оставим в стороне проблему достоверности корреляций.

Для более наглядного представления совокупности связей их можно представить в виде корреляционных плеед (рис. 50). Видно, что *F. mirabilis* имеет довольно тесные корреляции с остальными видами, а также с толщиной слоя органики и влажностью. Поэтому вполне справедливо предположение о том, что корреляции трех видов с *F. mirabilis* в значительной мере определяются корреляциями этих видов с упомянутыми абиотическими факторами. Для проверки этого предположения следует

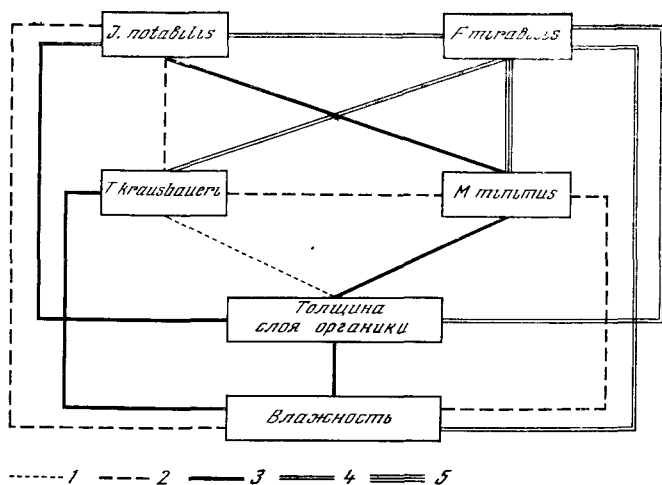


Рис. 50. Корреляционные плеяды связей нескольких видов коллембол между собой и с абиотическими признаками

1: $r < 0,20$; 2: $0,21 \leq r \leq 0,30$; 3: $0,31 \leq r \leq 0,40$; 4: $0,41 \leq r \leq 0,50$; 5: $r > 0,50$

вычислить частные коэффициенты корреляции между видами при устранении экологических факторов. Исключим фактор «толщина слоя органики»:

$$r_{12.5} = \frac{0,43 - 0,37 \cdot 0,42}{(1 - 0,37)^2 (1 - 0,42)^2} = 0,33.$$

То же при исключении фактора «влажность»:

$$r_{12.6} = \frac{0,43 - 0,30 \cdot 0,41}{(1 - 0,30)^2 (1 - 0,41)^2} = 0,35.$$

Соответствующим образом получаем

$$r_{23.5} = 0,52; \quad r_{23.6} = 0,34;$$

$$r_{24.5} = 0,65; \quad r_{24.6} = 0,68.$$

Можно рассчитать также частные корреляции второго порядка между видами при исключении одновременно обоих абиотических факторов. Для этого сперва вычисляем следующие частные коэффициенты корреляции первого порядка:

$$r_{16.5} = 0,21; \quad r_{26.5} = 0,34;$$

$$r_{35.6} = 0,12; \quad r_{45.6} = 0,32.$$

Тогда

$$r_{12.56} = \frac{r_{12.5} - r_{16.5} \cdot r_{26.5}}{(1 - r_{16.5}^2)(1 - r_{26.5}^2)} = \frac{0,33 - 0,21 \cdot 0,32}{(1 - 0,21^2)(1 - 0,32^2)} = 0,28.$$

Рассчитываем также

$$r_{23.56} = \frac{r_{23.5} - r_{25.6} \cdot r_{35.6}}{(1 - r_{25.6}^2)(1 - r_{35.6}^2)} = 0,60.$$

$$r_{24.56} = \frac{r_{24.5} - r_{25.6} \cdot r_{45.6}}{(1 - r_{25.6}^2)(1 - r_{45.6}^2)} = 0,61.$$

Как видно, теснота связи между *I. notabilis* и *F. mirabilis* значительно уменьшается при исключении влияния абиотических факторов. Это означает, что большую часть корреляции между данными видами действительно можно объяснить их одинаковыми требованиями к исследованным факторам.

Корреляция между *F. mirabilis* и *T. krausbaueri* при исключении абиотических факторов уменьшается не так сильно. Это свидетельствует о том, что, помимо контролируемых абиотических факторов, существуют какие-то другие экологические факторы, влияющие на распределение этих видов коллембол. Корреляция между видами *F. mirabilis* и *T. krausbaueri* при исключении фактора «толщина слоя органики» увеличивается, а при исключении фактора «влажность» — уменьшается. При исключении одновременно обоих упомянутых факторов связь между видами также повышается. Это объясняется слабой корреляцией численности *T. krausbaueri* с толщиной органики. При исключении фактора «влажность» она становится даже слабо отрицательной ($r_{35.6} = -0,12$). *T. krausbaueri* является типично почвенным видом, обитающим в основном в верхнем минеральном слое почвы. Влажность этого горизонта почвы под толстым слоем подстилки в нормальных условиях стабильна. Очевидно, поэтому упомянутые абиотические факторы оказывают малое влияние на распределение данного вида.

Далее можно вычислить частные корреляции между другими парами видов с устранением абиотических факторов. Но уже полученные результаты показывают, что влажность и толщина слоя органики не являются единственными экологическими факторами, воздействующими на распределение рассмотренных видов коллембол.

Регрессионный анализ

Регрессионный анализ применяется для описания математических уравнений (уравнение регрессии) стохастической зависимости признака y от одного или большего количества факториальных признаков X и дает критерии для определения статистической достоверности параметров (коэффициентов) этого уравнения.

Для изучения закономерности изменения какого-либо признака в зависимости от изменений одного факториального признака применяется парный (линейный и нелинейный) регрессионный анализ. При графическом изображении парной регрессионной зависимости через корреляционное поле необходимо провести линию регрессии (прямую или кривую) так, чтобы сумма квадратов расстояний всех точек от этой линии была бы минимальной. Приблизительно эту линию регрессии можно нарисовать от руки, однако точные результаты дает только метод наименьших квадратов. При этом по виду приближительной регрессии выбирается математическое уравнение, наилучшим образом описывающее эту линию (рис. 51—54). После этого по методу наименьших квадратов вычисляют коэффициенты этого уравнения и составляют уравнение регрессии.

Если число пар данных n мало и значения y_i характеризуются большим рассеянием, для описания зависимости предпочтительнее линейное уравнение.

Часто разные математические уравнения одинаково хорошо описывают одну и ту же регрессионную зависимость, особенно если регрессия изучается на узком интервале значения X . Если отсутствуют какие-либо теоретические соображения о характере изучаемой регрессионной зависимости, в качестве уравнения следует выбрать наиболее простую функцию. Чаще всего это линейное уравнение, полиномиальная или экспоненциальная функция.

Модели регрессионного анализа. Различают две основные модели регрессионного анализа:

1. Модель I (*регрессионная модель*). Исследователю известно, какой из изучаемых признаков является факториальным, а какой зависимым. Значения факториального признака выбираются исследователем (например, дозы вещества). Каждому фиксированному значению

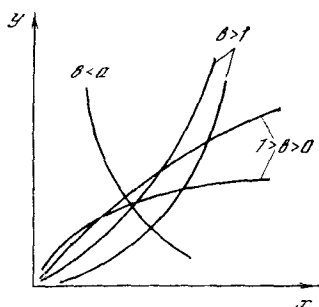


Рис. 51. Формы кривых степенной функции $y = ax^b$

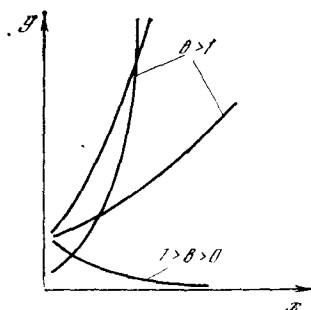


Рис. 52. Формы кривых показательных функций $y = ab^x$

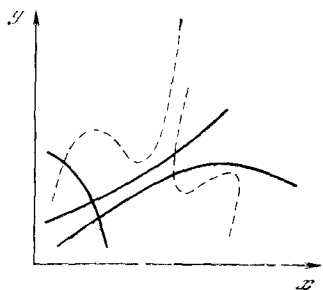


Рис. 53. Кривые параболических функций

Сплошной линией — параболы 2-го порядка $y = b_0 + b_1x + b_2x^2$; пунктиром — параболы 3-го порядка $y = b_0 + b_1x + b_2x^2 + b_3x^3$

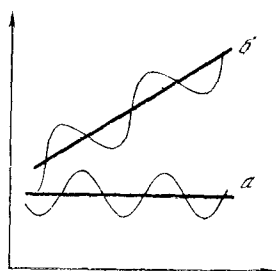


Рис. 54. Кривые периодической регрессии

a — уравнения $y = b_0 + b_1 \sin x + b_2 \cos x$; b — уравнения $y = b_0 + b_1x + b_2 \sin x + b_3 \cos x$

факториального признака должно соответствовать нормальное распределение зависимого признака. Дисперсии распределений зависимых признаков должны быть равны для всех фиксированных X . Коэффициент корреляции в этой модели имеет ограниченное значение. Статистические оценки его ненадежны, поскольку зависят от выбранных исследователем фиксированных значений факториального признака X .

2. Модель II (*корреляционная модель*). Нет предположения о причинно-следственных отношениях между изучаемыми признаками, которые могут рассматриваться как равноценные. Каждая пара значений признака

выбирается случайно из определенной генеральной совокупности, которая должна иметь биномиальное распределение. Оба признака в выборке должны иметь нормальное распределение. В принципе можно определить как регрессию признака y по x , так и x по y (*связанная регрессия*). Все показатели связи могут быть статистически оценены. Типичный пример корреляционной модели — данные о численности двух конкурирующих видов.

Общими для обеих моделей являются следующие предположения. Отклонения эмпирических значений зависимых признаков от линии регрессии должны быть взаимно независимы. Данные действительно были получены из генеральной совокупности, в отношении которых должны быть сделаны выводы. Связь между значениями признаков не меняется под воздействием неконтролируемых факторов. Последнее предположение в экологии часто нарушается. На практике часто имеет место так называемая смешанная модель, когда исходные данные только частично соответствуют какой-либо из описанных выше моделей. В случае невыполнения предположений о нормальности распределения следует провести преобразование данных. Этим, как правило, обеспечивается и равенство дисперсий y для каждого x . Если причинно-следственные связи между признаками известны, но значения x не фиксированы, при расчетах регрессии y по x целесообразно привести к нормальному распределению также и значения факториального признака x . Например, при определении зависимости численности почвенных беспозвоночных от изменений какого-либо экологического фактора в полевых условиях как x , так и y будут случайными величинами. При этом если распределение данных не соответствует нормальному, а преобразованы только значения y , коэффициент корреляции, рассчитанный по таким данным, не будет иметь статистической надежности. Если преобразовать также значения x , то все оценки параметров регрессионного уравнения будут статистически надежными.

Линейный регрессионный анализ. Регрессионная зависимость описывается уравнением прямой $y = b_0 + b_1 x$, где b_0 — свободный член; b_1 — коэффициент регрессии. При увеличении (уменьшении) x на единицу y увеличивается на b_1 единиц. Если при увеличении x значение y увеличивается, то $b_1 > 0$; если при увеличении x значение y уменьшается, то $b_1 < 0$. Коэффициент равен значению y в точке, где прямая пересекает ось y .

Формулы для расчета коэффициента регрессии выводятся из соответствующей системы нормальных уравнений. Они имеют следующий вид:

$$b_1 = \frac{\sum_{ij} x_i y_j - \frac{\sum_i x_i \sum_j y_j}{n}}{\sum_i x_i^2 - \frac{(\sum_i x_i)^2}{n}};$$

$$b_0 = \frac{\sum_j y_j - b_1 \sum_i x_i}{n},$$

где n — число пар значений x_j, y_j .

Рассмотрим расчеты линейной регрессии на примере зависимости интенсивности дыхания дождевых червей *Eisenia pordenskioldi* от их веса при температуре 4°С (см.: Изучение тесноты связи при линейной зависимости). Как показано выше, распределение значений интенсивности дыхания этих червей и распределение их веса в выборке не соответствуют нормальному распределению и требуют преобразования в логарифмы. Приведем линейный регрессионный анализ согласно модели II.

Для расчета коэффициентов регрессии необходимо составить рабочую таблицу для получения входящих в формулы сумм. Для проведения линейного регрессионного анализа и расчета коэффициента корреляции по модели II используются одни и те же величины, поэтому мы можем воспользоваться рабочей таблицей. Коэффициенты регрессии:

$$b_1 = \frac{85,6562 - \frac{75,171 \cdot 33,753}{30}}{189,5334 - \frac{75,171^2}{30}} = 0,918;$$

$$b_0 = \frac{33,753 - 0,918 \cdot 75,171}{30} = -1,175.$$

Можно записать линейное уравнение регрессии

$$\hat{y} = 1,175 + 0,918x$$

или, учитывая, что регрессия вычислялась по логарифмам данных,

$$\lg \hat{y} = 1,178 + 0,918 \lg x.$$

Приведем дисперсионный анализ для определения достоверности регрессии:

$$Q = 39,2986 - 33,753^2/30 = 1,3231; \quad V = 30 - 1 = 29.$$

Для расчета суммы квадратов расстояния, объясняемой данным уравнением линейной регрессии, необходимо рассчитать теоретическое значение \hat{y}_i . Эти суммы можно рассчитать по уравнению регрессии, подставляя в нем соответствующие значения x (используются только логарифмированные значения!):

$$\hat{y}_1 = -1,755 + 0,918 \cdot 2,210 = 0,254$$

$$\hat{y}_2 = -1,775 + 0,918 \cdot 2,143 = 0,192$$

$$\hat{y}_3 = -1,775 + 0,918 \cdot 2,230 = 0,272$$

$$\hat{y}_{30} = -1,755 + 0,918 \cdot 2,728 = 0,729.$$

Рассчитаем суммы значения \hat{y}_i и \hat{y}_i^2 :

$$\sum \hat{y}_i = 15,758; \quad \sum \hat{y}_i^2 = 9,2697;$$

$$Q_{\hat{y}} = 9,2697 - \frac{15,758^2}{30} = 0,9925.$$

Линейное уравнение регрессии содержит два коэффициента, поэтому

$$V_{\hat{y}} = 2 - 1 = 1; \quad \bar{Q}_{\hat{y}} = 0,9925.$$

$$Q_e = 1,3231 - 0,9925 = 0,3306;$$

$$\bar{Q}_e = \frac{0,3306}{28} = 0,0118.$$

$$V_e = 30 - 2 = 28;$$

$$F = \frac{0,9925}{0,0118} = 84,110.$$

Составляем таблицу (табл. 26) дисперсионного анализа уравнения регрессии.

Как видно, уравнение линейной регрессии достоверно на уровне $\alpha = 0,01$. Чаще всего на этом этапе линейный регрессионный анализ заканчивается. При необходимости более всесторонней характеристики линейной регрессии

Таблица 26. Дисперсионный анализ уравнения регрессии

Вид рассеяния	Q	v	\bar{Q}	F	$F_{0,05, 1, 63}$	$F_{0,01, 1, 63}$
Общее	1,3231	29	0			
Объяснимое линейной регрессией	0,9925	1	0,9925	84,110	4,0	7,08
Случайное	0,3306	28	0,0118			

и коэффициентов уравнения вычисляются соответствующие стандартные ошибки и доверительные пределы (см.: Статистические ошибки при линейном регрессионном анализе).

Если значения x представляют собой фиксированные величины, то регрессионный линейный анализ проводится согласно модели I. В отношении распределения x при модели I не делается никаких предположений. Поэтому при расчетах можно использовать непреобразованные значения данных. В остальном схема расчетов та же, что и при модели II.

Статистические ошибки при линейном регрессионном анализе. Коэффициенты регрессионного уравнения вычисляются по выборочным данным, следовательно, они, а также уравнение в целом имеют стандартные ошибки. Геометрически это означает, что полученная нами прямая регрессии является только одной из множества прямых, которые мы получили бы, если имели возможность проводить расчеты над всем множеством выборок из данной генеральной совокупности. Стандартные ошибки коэффициентов регрессии b_1 и b_0 можно рассчитать по следующим формулам:

$$S_{b_1} = \sqrt{\frac{\bar{Q}_a}{\sum x_i^2 - \frac{(\sum x_i)^2}{n}}}; \quad S_{b_0} = \sqrt{\frac{\bar{Q}_a}{n}}.$$

При умножении стандартной ошибки на коэффициент $t_{\alpha, v}$, где $V = n - 2$, получаем соответствующие ошибки репрезентативности коэффициентов регрессии, которые указывают доверительные пределы для генеральных значений этих коэффициентов с вероятностью ошибки α :

$$\pm \Delta b_1 = S_{b_1} t_{\alpha, v}; \quad \pm \Delta b_0 = S_{b_0} t_{\alpha, v}.$$

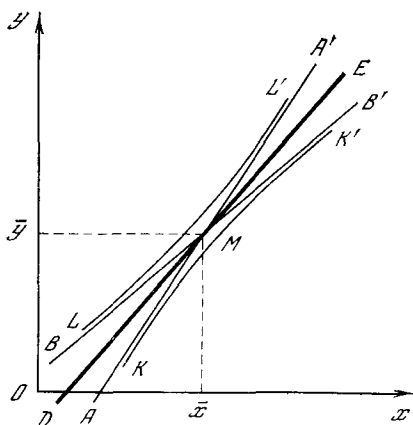


Рис. 55. Геометрическая интерпретация доверительных границ регрессии

AA' , BB' — прямые, представляющие доверительные пределы для коэффициента b_1 ; LL' , KK' — кривые, представляющие доверительные пределы для прямой регрессии

Геометрическая интерпретация $\pm b_1$ показана на рис. 55. С вероятностью ошибки α можно утверждать, что неизвестная генеральная прямая регрессии лежит внутри некоторого пучка кривых, исходящих из угла, образованного двумя прямыми с координатами:

$$(y_i - \bar{y}) = b_0 + (b_1 + \Delta b_1)(x_i - \bar{x});$$

$$(y_i - \bar{y}) = b_0 + (b_1 - \Delta b_1)(x_i - \bar{x}).$$

Геометрическая интерпретация $\pm b_0$ показана на рис. 55. С вероятностью ошибки α можно утверждать, что генеральная прямая регрессии лежит между двумя параллельными прямыми с координатами:

$$y = (b_0 + \Delta b_0) + b_1 x; \quad y = (b_0 - \Delta b_0) + b_1 x.$$

Границы общей зоны, в которой лежит генеральная прямая регрессии, характеризует полная стандартная ошибка регрессии

$$S_{\hat{y}} = S_{b_0} \sqrt{\frac{\frac{1}{n} \left(x - \frac{\sum x_i}{n} \right)^2}{\sum_i x_i^2 - \frac{\left(\sum x_i \right)^2}{n}}}; \quad S_{yx} = \sqrt{Q_a},$$

где S_{yx} — стандартное отклонение регрессии.

Для каждого x вычисляется свое значение $S_{\hat{y}}$. Ошибка репрезентативности для каждого среднего значения

наблюдения в точке x :

$$\Delta_y = t_{\alpha V} S_{\hat{y}}, \quad \text{где } V = n - 2.$$

Геометрическая интерпретация Δ_y : ошибка репрезентативности Δ_y (в отдельности для каждого x) характеризует границы, в которых с вероятностью ошибки α лежит соответствующее этому x среднее теоретическое значение \hat{y} . Генеральная прямая регрессии как геометрическое место всех точек \hat{y}_i с вероятностью ошибки α лежит в зоне, пределами которой является пара кривых — ветви гиперболы (рис. 55).

Доверительная зона регрессии уменьшается при увеличении объема выборки n . Чем уже доверительная зона регрессии, тем более адекватно линейное уравнение описывает изучаемую нами зависимость.

Метод наименьших квадратов и определения достоверности уравнения регрессии. Проведенные линии регрессии через корреляционное поле и описание уравнением зависимости признака y от x по существу не что иное, как замена каждого эмпирического значения y_i определенным теоретически предполагаемым значением \hat{y}_i , лежащим на линии регрессии. Метод наименьших квадратов позволяет вычислить для выбранного уравнения такие значения параметров (коэффициентов регрессии), которые обеспечивают наименьшую сумму квадратов расстояний всех эмпирических точек от данной линии регрессии:

$$Q_0 = \sum_i (y_i - \hat{y}_i)^2 \rightarrow \min.$$

Коэффициенты регрессии вычисляют, решая так называемую систему нормальных уравнений, получаемую из приведенного выше равенства путем замены величины \hat{y}_i соответствующим выражением функции и ряда математических преобразований.

Когда трудно решить, какая функция лучше описывает изучаемую стохастическую зависимость, иногда рекомендуют проверить несколько предполагаемых уравнений и выбрать то, которое дает наименьшее значение Q_0 . Такие расчеты, однако, очень трудоемки и обычно проводятся при помощи ЭВМ.

Нелинейная парная регрессия. Для описания нелинейной зависимости в экологии используются различные математические функции. Необходимо различать случаи,

когда математическое уравнение используется только в качестве аппроксимации зависимости и когда оно отражает биологическую сущность данной зависимости. В первом случае коэффициенты регрессии не имеют биологической интерпретации и по существу неважно, какое именно математическое уравнение выбрано, лишь бы оно достаточно хорошо описывало эмпирическую зависимость согласно принципу наименьших квадратов. Во втором случае регрессионное уравнение имеет биологическую интерпретацию и является математической моделью изучаемого явления.

Выбору соответствующей математической функции в качестве уравнения регрессии значительно помогает графическое представление регрессионной зависимости — форма корреляционного поля. Для вычисления коэффициентов нелинейной регрессии во многих случаях требуется приведение регрессии к линейной форме. Это означает приведение значений факториального и зависимого признаков посредством их математического преобразования в такой вид, чтобы зависимость между преобразованными величинами стала бы линейной. Существует ряд математических функций, для которых нельзя получить линейные преобразования. Для регрессионного анализа таких уравнений применяются другие методы (Болч, Хуань, 1979). Вид преобразований непременно надо учитывать при интерпретации коэффициентов уравнений регрессии.

Степенная функция $y = ax^b$ (см. рис. 51) Линейное преобразование имеет вид: $\lg y = \lg a + b \lg x$.

Показательная функция $y = ab^x$ (см. рис. 52). Линейное преобразование: $\lg y = \lg a + x \lg b$.

Гиперболическая функция $y = a + b/x$. Линейное преобразование имеет вид: $y = a + bl$, где $l = 1/x$, иногда удобно пользоваться гиперболическим уравнением вида $y = 1/(a + bx)$, линейное преобразование которого: $l = a + bx$, где $l = 1/y$, или же уравнением вида $y = x/(a + bx)$, линейный вид которого: $x/y = a + bx$. Гиперболическую функцию можно использовать для описания регрессии, если установлено, что при постепенном увеличении значений факториального признака зависимый признак становится нечувствительным к этим изменениям, оставаясь на одном уровне.

Параболические функции (см. рис. 53). Общий вид уравнения представляется полиномом n -й степени $y = b_0 + b_1x + b_2x^2 + b_3x^3 + b_nx^n$. Если $y = a$ (парабола нулевой

Рис. 56. Кривые параболлических функций

Сплошной линией — уравнения

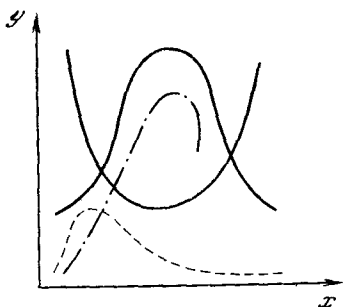
$$y = \frac{1}{b_0 + b_1x + b_2x^2};$$

пунктиром — уравнения

$$y = \frac{x}{b_0 + b_1x + b_2x^2};$$

штрих-пунктиром — уравнения

$$y = b_1x + b_2x^2$$



степени), зависимость отсутствует и график изображается в виде горизонтальной прямой, проходящей через точку y на оси ординат. Если $y = b_0 + b_1x$ (парабола первой степени), график изображается прямой. Если $y = b_0 + b_1x + b_2x^2$ (парабола второй степени), линия имеет одну точку перегиба (см. рис. 53). Если $y = b_0 + b_1x + b_2x^2 + b_3x^3$ (парабола третьей степени), могут быть две точки перегиба.

Обратные параболлические функции, например уравнения (рис. 56):

$$y = \frac{1}{a_0 + b_1x + b_2x^2}; \quad y = \frac{x}{b_0 + b_1x + b_2x^2};$$

$$y = ax + bx^3.$$

Первая и вторая функция могут быть применены для характеристики отношения ареалов и количества видов в родах. Второй формулой можно хорошо описать «правило оптимума», широко известное в зоологии (Терентьев, Ростова, 1977).

Периодические функции. Применяются для описания главным образом различных циклических временных явлений. В биологии наиболее часто используется уравнение: $y = b_0 + b_1 \sin x + b_2 \cos x$, где $x = i \frac{360^\circ}{k}$, $i = 0, 1, \dots, k$ (k — число наблюдений за цикл, проведенных через равные промежутки времени). Коэффициент b_0 указывает на средний уровень, около которого периодически колеблются значения зависимого признака. Линия, характеризующая средний уровень колебания зависимого признака, называется трендом. Бывает, что значения тренда также изменяются во времени. При этом эти изменения могут носить как линейный, так и нелинейный характер (см. рис. 54). В таких случаях сначала определяют уравнение

регрессии тренда, а затем это уравнение суммируют с уравнением периодической регрессии. Так, например, если уравнение тренда описывает линейную зависимость $y = b_0 + b_1x$, то суммируя это уравнение с уравнением периодической регрессии, получаем уравнение вида: $y = b_0 + b_1x + b_2 \sin x + b_3 \cos x$.

При нелинейной регрессии остаются в силе все предположения о моделях регрессии, в том числе требования о нормальности распределения данных.

Составление системы уравнений. Для нахождения коэффициентов нелинейного уравнения методом наименьших квадратов необходимо составить и решить систему нормальных уравнений.

При освоении принципов составления схемы исследователь сам сможет составить систему нормальных уравнений для большинства нелинейных уравнений. Решение подобных задач осуществляется на основе стандартных программ на мини-ЭВМ.

ГЛАВА 8

Информационно-логический анализ

Информационно-логический анализ был разработан для исследования сопряженности между свойствами (признаками) одного или различных объектов, между свойствами объекта и свойствами среды в тех случаях, когда какая-либо априорная информация о свойствах распределений, характере и особенностях возможных связей отсутствует или по методологическим соображениям не принимается во внимание, а сами признаки могут быть описаны любыми способами. Одним из важных мотивов для проведения такого анализа была типичность использования в полевой экологии качественных описательных характеристик состояния какого-либо признака, которые к тому же не имеют какого-либо естественного порядка. Например: еловый лес, сосновый лес, березовый лес и т. д.— признак «лес» подразделяется на состояния по господствующей породе.

Анализ состоит из двух существенно независимых частей: исследования величин сопряженности и характера сопряженности с помощью непараметрических методов и мер, связанных с теорией информации и построения

функций с помощью пороговой и многозначной логики и эвристических методов.

Логическая часть анализа предполагает, что объект, рассматриваемый как функция в целом, детерминированно определен совокупностью факторов — аргументов. Вероятностный характер связи каждого объекта с любым отдельно взятым аргументом — фактором определяется зависимостью его от множества других факторов.

Информационные методы исследования сопряженности строятся на основе сопоставления наблюдаемых соотношений с теми, которые имели бы место, если бы рассматриваемые свойства были бы независимы.

Пусть x, y — некоторые свойства, например x — механический состав почвы, y — численность некоторого вида: $x_1; x_2, \dots, x_i$ — состояния (песок, супесь, суглинок, ... торф), y_1, y_2, \dots, y_n — градация численности вида. На основе случайной или равномерной выборки устанавливается условная частота каждого состояния y_j по каждому состоянию x_i :

$$p(y_j/x_i) = \frac{n(x_i, y_j)}{n(x_i)} = \frac{p(x_i, y_j)}{p(x_i)},$$

где $n(x_i, y_j)$ — число случаев в выборке, когда эти два состояния были встречены совместно, например, «отсутствие вида» и «пески»; $n(x_i)$ — число случаев в выборке, когда было отмечено данное состояние со всеми состояниями y :

$$n(x_i) = n(x_i, y_1) + n(x_i, y_2) + \dots + n(x_i, y_n).$$

$p(x_i, y_j) = \frac{n(x_i, y_j)}{N}$ — частота совместной встречаемости

состояний x_i, y_j ; N — общее число наблюдений; $p(x_i) = n(x_i)/N$ — частота состояния x_i во всей выборке.

Отметим, что в том случае, когда нашей целью является исследование того, насколько состояния объекта определяются состоянием признака, рассматриваемого в качестве фактора, более эффективно использовать не случайную, а равномерную выборку, при которой каждое из состояний признака — «фактора» входит в выборку с примерно одинаковой частотой. Однако относительно каждого состояния выборка может носить случайный характер. Например, вне зависимости от того, часто или редко песчаные почвы встречаются в регионе, они включаются в выборку с той же частотой, что и суглинистые и супесча-

ные, но выбор конкретных мест наблюдений во всех местообитаниях с песчаными почвами — случайный. Для эколога более естественно организовать выборку таким образом, чтобы она равномерно охватывала все возможные модификации местообитаний с песчаными почвами, с супесчаными почвами, с суглинистыми почвами и т. д. Такая выборка предполагает включение в анализ всего возможного разнообразия сочетаний состояний различных факторов и наиболее полно соответствует концепция экологического пространства.

Если состояние y_j не зависит от состояния x_i , то, как бы ни была организована выборка, при достаточно большом объеме наблюдений совместная частота:

$$p(x_i, y_j) = p(x_i)p(y_j)$$

и условная частота:

$$p(y_j/x_i) = \frac{p(x_i)p(y_j)}{p(x_i)}.$$

Эти соотношения определяются основными аксиомами теории вероятностей. В условиях действительной независимости получить равенство реально наблюдаемых частот с теоретическими можно лишь случайно, поэтому необходимо на основе критериев определить, какое отличие наблюдаемой частоты от теоретической, соответствующей гипотезе независимости, можно принять при имеющейся выборке, достаточной для ее отбрасывания. Чем больше отличие между теоретической и фактической частотами, тем соответственно больше сопряженность признаков.

Оценка связанности двух состояний сравниваемых признаков:

$$C(y_j/x_i) = \frac{p(y_j/x_i)}{p(y_j)}.$$

Если коэффициент связи равен единице, то y_i и x_i независимы, если больше 1, то x_i способствует, влечет y_j и можно говорить, что x_i положительно влияет на y_j . Справедливо и обратное утверждение. Если коэффициент связи меньше 1, то можно говорить, что x_i отрицательно влияет на y_j .

$$2N(x_i) \left[p \left(\frac{y_j}{x_i} \right) \ln \frac{p(y_j/x_i)}{p(y_j)} + 1 - p \left(\frac{y_j}{x_i} \right) \ln \times \right. \\ \left. \times \frac{1 - p(y_j/x_i)}{1 - p(y_j)} \right] = \chi^2$$

с одной степенью свободы.

$$\chi_{0,95}^2 = 3,84; \quad \chi_{0,99}^2 = 6,64; \quad \chi_{0,999}^2 = 10,8.$$

Выражение в квадратных скобках само по себе может рассматриваться как оценка связи между двумя состояниями. Например, в условиях сезонного оттаивания почв менее 30 см на севере Эвенкии не было отмечено ни одного дождевого червя. Соответственно условиям частота отсутствия дождевых червей y , относительно состояния фактора x ;

$$P(y_1/x_1) = 1.$$

Во всей выборке $P(y_1) = 0,692$; $N(x_1) = 17$.

$$\chi^2 = 2,17 \cdot \ln 1/0,692 = 12,5.$$

Следовательно, есть все основания утверждать, что очень слабое оттаивание почв в течение лета исключает существование дождевых червей.

При состоянии x_i с различными условными частотами в выборке могут встречаться состояния y_1, y_2, \dots, y_k :

$$p(y_1/x_i) + p(y_2/x_i) + \dots + p(y_k/x_i) = 1.$$

Сопряженность всех состояний y с состоянием x естественно определить, сопоставив условное распределение с общим распределением y : $p(y_1) + p(y_2) + \dots + p(y_k) = 1$.

$$J(y/x) = - \sum_{j=1}^k p(y_j) \ln p(y_j) + \sum_{j=1}^k p(y_j/x_i) \ln p(y_j/x_i).$$

Первое слагаемое в правой части — неопределенность y — $H(Y)$, второе слагаемое — условная неопределенность $H(y/x)$.

$2n(x_i)J(y/x_i) \approx \chi^2$ с $k - 1$ степеней свободы.

Полученная оценка частной сопряженности $J(y/x_i)$ имеет размерность, связанную с основанием логарифма и изменяется в интервале $0 - H(y)$.

Естественно ввести безразмерный коэффициент, имеющий линейную форму:

$$k(y/x_i) = \frac{e^{J(y/x_i)} - 1}{e^{H(y)} - 1}.$$

Коэффициент дает оценку вероятности изменения состояний y относительно общего распределения вероятности при условии воздействия состояния x_i .

Пусть оценена сопряженность y с каждым состоянием x . Тогда общая оценка сопряженности:

$$T(x, y) = \sum_{i=1}^n p(x_i) J(y/x_i).$$

$2NT(y, x) = \chi^2$ с $(k-1)(n-1)$ — числом степеней свободы.

Другая форма записи:

$$H(y) = - \sum p(y_j) \cdot \ln \cdot p(y_j);$$

$$H(x) = - \sum p(x_i) \cdot \ln \cdot p(x_i);$$

$$H(y, x) = - \sum \sum p(x_i, y_j) \cdot \ln p \cdot (x_i, y_j);$$

$$T(y/x) = H(y) + H(x) - H(y, x);$$

$$H(y/x) = - \sum p(y_j/x_i) \cdot \ln p(y_j/x_i);$$

$$T(y, x) = H(y) - H(y/x_i).$$

В общем случае:

$$T(y; x^1, x^2, \dots) = H(y; x^1, x^2, \dots).$$

Безразмерный коэффициент соответственно равен:

$$K(y/x^1, x^2, \dots) = (e^T - 1) / (e^{H(y)} - 1).$$

Таким образом, рассматривая условные частоты и их распределение, получаем систему оценок, отображающих различные аспекты сопряженности:

1. На основе коэффициента связи $C(y_j/x_i)$ выделяем состояния из y , наиболее характерные для x . Характерно то состояние функции, которое с относительно наибольшей частотой встречается именно при этом состоянии аргумента. Например, состояние стресса в популяции, вообще говоря, редкое явление, но оно характерно для повышенной численности популяции, хотя и в этом случае необязательно встречается с большой частотой. Таким образом, выделяя коэффициенты связи $C(y_j/x_i) > 1$, получаем приближенное отражение характера сопряженности y и x — зависимость, так сказать, в существенной степени «очищенную» от влияния случайности и других факторов. Если относительно каждого состояния из x выбрать максимальные значения коэффициентов $C(y_j/x_i)$, то получим соответственно более «жест-

кое» описание характера сопряженности. Такая интерпретация в полной мере справедлива, если сопряженность между факторами, реально определяющими функцию, не высока. Низкую сопряженность факторов можно обеспечить как специальной организацией выборки, так и за счет массовости материала, собираемого по равномерной схеме. Содержание полученных отношений может быть расшифровано или через привлечение известных общих представлений об экологии изучаемого объекта или постановкой новых, специально организованных наблюдений и опытов.

2. Оценка частной сопряженности позволяет исследовать чувствительность объекта к различным состояниям факторов. Если частная сопряженность невелика, то состояние фактора допускает практически любые состояния функции и, следовательно, может рассматриваться как нейтральное. Чаще всего для такого состояния фактора характерно среднее состояние функции, а иногда максимальное. Если имеет место первый случай, то из этого почти наверно следует, что факторы действуют на объект по компенсационному принципу, т. е. неблагоприятные условия по одному из факторов могут в определенной степени компенсироваться благоприятными условиями по другому или другим. Если минимальная чувствительность отмечается для состояния фактора с характерным максимальным значением функции, то, скорее всего, воздействие этого фактора реализует «принципы минимума». Анализируя коэффициенты связи и коэффициенты частной чувствительности, можно точно определить условия экологического оптимума по каждому фактору, условия пессимума и переходную область. Совокупность таких отображений на каждый признак среды, рассматриваемый в качестве фактора, позволяет оценить положение экологической ниши вида в многомерном пространстве. Уточнения оценок этого положения можно получить, рассматривая двух-, трехфакторные планы.

3. Оценка общей сопряженности позволяет исследовать чувствительность объекта к различным факторам, выявить ведущие факторы и подчиненные, факторы, не оказывающие заметного влияния. Если воздействие факторов на объект строится по компенсационному принципу, то с учетом коэффициентов связи и коэффициентов чувствительности, полученных на основе оценки сопряженностей, можно построить приближенную функциональную зависимость, имеющую прогностическую ценность.

Рассматривая многофакторные планы, можно исключить факторы, сопряженность которых с изученным объектом носит косвенный характер (Кульбак, 1967; Пузаченко, Скулкин, 1981).

Рассмотрим типичный пример применения информационно-логического анализа. В лиственничной тайге северной Эвенкии, около Полярного круга проводили учеты дождевых червей. Относительно невысокая численность вида определила использование относительно больших проб ($0,5 \text{ м}^2$). При размещении проб охватывалось возможно большее сочетание условий местообитаний. Вполне понятно, что отдельные состояния характеристик весьма редки и не могут сочетаться со всеми состояниями других характеристик. Так, например, наличие травяного яруса или отсутствие напочвенного покрова вообще — явления весьма редкие и встречающиеся далеко не во всех условиях. Вместе с тем базовые характеристики условий среды — состояние рельефа и глубина сезонного протаивания почвы — были включены в наблюдения в примерно равных пропорциях. Всего в анализ включены 54 пробы.

В табл. 27 приведены результаты расчетов. Однофакторный анализ показал, что численность дождевых червей в наибольшей степени определяется глубиной сезонного протаивания почвы. Если почвы оттаивают меньше чем на 30 см, то дождевые черви вообще отсутствуют. Коэффициенты связи показывают, что при протаивании от 30 до 100 см характерна средняя численность дождевых червей или несколько выше средней (3—5 особей на $0,5 \text{ м}^2$). При глубоком протаивании ситуация весьма неопределенна: характерна как очень высокая численность, так и отсутствие дождевых червей. При глубоком сезонном протаивании или вообще при отсутствии мерзлоты (лиственничники на гравийно-галечниковых террасах) чрезмерная сухость почв может исключить существование дождевых червей, напротив же в условиях достаточного увлажнения гидротермический режим становится оптимальным. Таким образом, можно предположить, что условия мерзлотного режима почв влияют на дождевых червей через изменение гидротермического режима. При малом протаивании почв режим увлажнений хороший, но суровый температурный режим исключает существование дождевых червей; при среднем протаивании наличие близкой вечной мерзлоты поддерживает хороший режим увлажнения, а температурный режим приближа-

Таблица 27. Зависимость численности дождевых червей (*Eisenia bogdenskioldi*) от характеристик местообитания в северной лиственничной тайге Эвенкии

Характеристика местообитаний	Численность дождевых червей на 0,5 м ²				px_i	$J(y/x_i)$
	0	1-2	3-4	5		
Глубина сезонного протаивания почвы, см						
<30 (x_1^1)	$\frac{1,6}{1,0}$	0	0	0	0,312	1,572
30-60 (x_2^1)	0,182	$\frac{2,0}{0,454}$	$\frac{3,0}{0,272}$	0,091	0,344	0,075
> 60-100 (x_3^1)	$\frac{1,07}{0,636}$	0,182	0,000	$\frac{2,0}{0,182}$	2,262	0,9)
<i>py</i>	0,592	0,218	0,095	0,095		

$T(y, x^1) = 0,5798$ бит.

$\chi^2 = 40,4$; $c = 6$; $\chi_{0,999}^2 = 22,46$.

$K(y/x^1) = 0,22$.

Состав травяно-кустарничкового яруса (x_1^2)						
кустарнички (x_1^2)	$\frac{1,22}{0,720}$	$\frac{1,33}{0,240}$	0	0,04	0,781	0,551
травяной (x_2^2)			$\frac{4,5}{0,428}$	$\frac{3,2}{0,288}$	0,269	-0,551
<i>py</i>	0,592	0,218	0,095	0,095		

$T(y/x^2) = 0,3720$ бит.

$\chi^2 = 27,84$; $c = 3$; $\chi_{0,999}^2 = 16,268$.

$K(y/x) = 0,14$.

Состав мохово-лишайникового яруса						
лишайники (x_1^3)	$\frac{1,25}{0,800}$	0,133	0,077	0	0,469	0,6426
зеленые мхи (x_2^3)	0,428	$\frac{1,64}{0,357}$	$\frac{1,49}{0,142}$	0,073	0,488	-0,1580
отсутствие (x_3^3)	0,334	0,0	0,0	$\frac{7,01}{0,666}$	0,092	0,6531
<i>py</i>	0,592	0,218	0,095	0,095		

Таблица 27 (окончание)

Характеристика место обитаний	Численность дождевых червей на 0,5 м ²				px _t	J (y x _t)
	0	1—2	3—4	5		

$T (y/x^3)=0,2856$ бит.

$\chi^2=21,38$; $c=6$; $\chi_{0,99}^2=16,812$.

$K (y/x^3)=0,11$.

рельеф (x^4)						
равнины (x_1^4)	0,09	1,07	1,24	0,531	0,3110	
	0,647	0,235	0,118			
склоны (x_2^4)	0,533	0,200	0,067	2,2	0,469	-0,1000
				0,200		

$T y/x^4=0,1182$ бит.

$\chi^2=8,84$; $c=3$; $\chi_{0,95}^2=7,681$.

$K (y/x^4)=0,04$.

ется к благоприятному; при отсутствии мерзлоты режим увлажнения зависит уже от иных факторов, в то время как температурный режим оптимален.

Кроме мерзлотного режима почвы, важное значение имеет состав травяно-кустарничкового яруса. Травяной ярус создает для дождевых червей наилучшие условия, кустарничковый же ярус совершенно определенно неблагоприятен. Естественно объяснить эти соотношения трофическими связями. Лишайники для дождевых червей наиболее неблагоприятны.

При отсутствии напочвенного покрова дождевые черви могут отсутствовать. Очевидно, что господство в напочвенном покрове лишайников создает относительно засушливые условия, в то время как покров зеленых мхов поддерживает относительно высокую и, самое главное, достаточно постоянную влажность почвы. При отсутствии напочвенного покрова за счет влияния других факторов чаще всего складываются весьма благоприятные условия, но само по себе отсутствие напочвенного покрова едва ли что-либо определяет.

Минимальное влияние на дождевых червей, как и следовало ожидать, оказывает рельеф. На равнинах условия для дождевых червей — пессимальны, на склонах —

в целом оптимальны. Можно полагать, что рельеф косвенно влияет на дождевых червей в первую очередь за счет изменения режима увлажнения и мерзлотного режима.

Как следует из таблиц, полученные соотношения не противоречат представлениям о факторах, которые могут влиять на численность вида. Высказанные предположения сформулированы на основе как априорных представлений об экологии рассматриваемой жизненной формы, так и на основе логической повторяемости отношений: характер влияния мерзлотного режима, напочвенных покровов, рельеф. Эти соотношения подсказывают, что существенное значение в определении численности дождевых червей имеет гидротермический режим. Однако с формальных позиций для доказательства этого предположения необходима организация специальных прямых исследований.

Рассматриваемые характеристики местообитаний в определенной степени связаны друг с другом и нельзя исключить, что во влиянии одного из факторов опосредованно проявляется влияние другого. Характер таких соотношений можно исследовать, рассматривая зависимость объекта одновременно от двух и большего числа характеристик условий среды (табл. 28). В таблице приведены соответствующие расчеты, отображающие зависимость численности дождевых червей одновременно от глубины сезонного протаивания почв и состава травяно-кустарничкового яруса. Между этими двумя условиями местообитания, вполне понятно, существует определенная связь: при малом протаивании ярус образован только кустарничками, но при среднем и значительном протаивании может наблюдаться любой состав яруса. Следовательно, отрицательное влияние кустарничков на численность дождевых червей, выделяемое в однофакторной таблице, несколько завышено и кустарничковый ярус сам по себе определяет условия обитания, по-видимому близкие к средним.

Это находит отражение и в двухфакторной таблице. При среднем сезонном протаивании почв при развитии кустарничкового яруса одновременно характерны и низкая численность, и очень высокая. Из этой же таблицы следует, что глубокое сезонное протаивание почвы действительно далеко не всегда благоприятно для дождевых червей. При наличии кустарничкового яруса в этих условиях численность дождевых червей низка или они

Таблица 28. Зависимость численности дождевых червей от глубины сезонного протаивания почв и состава травяно-кустарничкового яруса

Характеристика местообитания		Численность дождевых червей на 0,5 м ²				px^2	$I(y/x^2)$
		0	1-2	3-6	>6		
x^2 Кустарничковый ярус (x_1^2)	x^1 <30 см	$\frac{1,69}{1,0}$	0	0	0	0,272	1,572
	30— 100 см	$\frac{0,245}{0,625}$	$\frac{2,87}{0,625}$	0	$\frac{1,31}{0,125}$	0,242	0,276
	>100 см	$\frac{1,27}{0,75}$	$\frac{1,15}{0,25}$	0	0	0,242	0,761
Травяной ярус (x_2^2)	30— 100 см	0,0	0,20	$\frac{8,42}{0,80}$	0	0,151	0,850
	>100 см	0,333	0,0	0,0	$\frac{7,0}{0,666}$	0,090	0,653
	py_j	0,592	0,218	0,095	0,095		

$T(x^1, x^2) = 0,232$ бит;

$T(y; x^1, x^2) = 0,8556$ бит.

$\chi^2 = 64,79$; $c = 20$; $\chi_{0,999}^2 = 45,31$.

$K(y/x^1x^2) = 0,41$.

вообще отсутствуют. Обычно при глубоком протаивании кустарнички господствуют на щебнистых, сильно дренируемых, пересыхающих почвах в сочетании с лишайниковым покровом.

Травяной ярус безусловно благоприятнее кустарничкового, но при глубоком сезонном протаивании и здесь часто наблюдается низкая численность червей.

Таким образом, двухфакторный анализ позволяет уточнить характер связи и выявить место опосредованных отношений. Используя полученные соотношения, можно отобразить зависимость в форме линейной функции. Для этого, опираясь на коэффициенты связи и характер их положения в таблице, можно приближенно определить отношения между состоянием численности и состоянием каждого фактора, так сказать, в снятом виде, без влияния всех других факторов.

Роль каждого фактора относительно всех других в определении состояния численности можно определить как отношение конкретного коэффициента к сумме всех остальных. Например, коэффициент $a_1 = 0,22 / (0,22 + 0,14 + 0,11 + 0,04) = 0,43$, тогда можно записать:

$$y = 0,43x^1 + 0,27x^2 + 0,22x^3 + 0,08x^4 \approx 0,4x^1 + 0,3x^2 + 0,2x^3 + 0,1x^4.$$

Решение уравнения просто: заданы условия x^1 : 30 — 60 см, определяют 3-й ранг численности, x_1^2 кустарнички — 2-й ранг, x_1^3 лишайники — 1-й ранг численности, x_2^4 склоны — 4-й ранг численности. Подставляем значения рангов в функцию:

$$y = 0,4 \cdot 3 + 0,3 \cdot 2 + 0,2 \cdot 1 + 0,1 \cdot 4 = 2,4.$$

Следовательно, в этих условиях численность дождевых червей должна быть около двух особей на $0,5 \text{ м}^2$. Если бы в тех же условиях были бы зеленомошниковые покровы, то численность должна быть несколько выше, приближаясь к трем-четырем особям. Сложнее решение функции в том случае, когда состоянию характеристики отвечают два диаметрально противоположных состояния численности. Если два других фактора — травяной ярус и рельеф — дают оценку состояния численности, близкую к максимально возможной, то для условия неопределенности принимаются значения состояния 4, в противном случае — 1.

Например, имеется следующая ситуация: мерзлота отсутствует, имеется травяной ярус, участок расположен на склоне. В этих условиях численность дождевых червей будет определяться как максимальная. Если же те же условия имеют место на равнине, то решение невозможно, так как травяной ярус определяет высокую численность, а равнинные условия, напротив, низкую. Очевидно наши материалы не дают исчерпывающей информации о факторах, определяющих численность дождевых червей; необходима более детальная характеристика гидрологического режима и, возможно, механического состава почвы.

Однако для широкого набора условий среды полученные соотношения позволяют получить вполне определенные заключения о возможной численности исследуемого вида. Проверка результатов показывает достаточно надежную аппроксимацию. Следует отметить, что проверку качества построенной функции необходимо проводить по независимой выборке.

Литература

- Абатуров Б. Д.* К учету биомассы дождевых червей//Проблемы почвенной зоологии: Материалы II Всесоюз. совещ. по проблемам почв. зоологии. М.: Наука, 1966. С. 8.
- Аринушкина Е. В.* Руководство по химическому анализу почв. М.: Изд-во МГУ, 1962. 490 с.
- Аристовская Т. В.* Микробиология процессов почвообразования. Л.: Наука, 1980. 185 с.
- Аристовская Т. В., Паринкина О. М.* Новые методические приемы изучения почвенных микроорганизмов//Почвоведение. 1961. № 1. С. 20—28.
- Балашов Ю. С.* Сбор клещей *Ornithodoros papillipes* Bir. в пещерах на CO₂//Энтомол. обозрение. 1972. Т. 51, вып. 1. С. 200—202.
- Беклемишев В. Н.* Суточные миграции беспозвоночных в комплексе наземных биоценозов//Тр. Пермского биол. ин-та. 1934. № 6. Вып. 3—4. С. 117—208.
- Беклемишев В. Н.* Экология малярийного комара. М.: Медгиз, 1944. 299 с.
- Бызова Ю. Б.* Условия дыхания беспозвоночных в почвах разных зон//Успехи соврем. биологии. 1968. Т. 66, 2 (5). С. 267—275.
- Бызова Ю. Б.* Методика измерения газообмена у наземных беспозвоночных//Зоол. журн. 1971. Т. 50, вып. 8. С. 1247—1249.
- Бызова Ю. Б., Бызов А. Л.* Полярнографическое измерение потребления кислорода у почвенных беспозвоночных//Зоол. журн. 1973. Т. 52. С. 1392—1395.
- Бызов А. Л., Бызова Ю. Б., Голубцов К. В., Геодакян В. А., Трусова Н. Н.* Автоматический микрореспирометр для продолжительного измерения потребления кислорода//Зоол. журн. 1967. Т. 46, вып. 12. С. 1852—1856.
- Василевич В. И.* Статистические методы в геоботанике. Л.: Наука, 1969. 231 с.
- Винберг Г. Г.* Энергетический принцип изучения трофических связей и продуктивности экологических систем//Зоол. журн. 1962. Т. 41, вып. 11. С. 1618—1630.
- Винберг Г. Г.* Пути количественного изучения потребления и усвояемости пищи водными животными//Журн. общ. биологии. 1964. Т. 25. С. 74—80.
- Винберг Г. Г.* Методы определения продукции водных животных: Методическое руководство и материалы. Минск: Выш. шк., 1968. С. 5—25.
- Вознесенский В. Л., Горбачева Г. И., Штаньков Т. П., Филиппов Л. А.* Определение сахаров по обесцвечиванию жидкости Феллинга//Физиология растений. 1962. Т. 9, вып. 2. С. 255—256.
- Второв П. П.* Проблемы изучения наземных экосистем. Фрунзе: Илим, 1971. 94 с.
- Галстян А. Ш.* Ферментативная активность почв Армении. Ереван, 1974. 275 с.
- Гельцер Ю. Г.* О новой методике изучения почвенных простейших//Вестн. МГУ. Сер. биол. 1960. № 6. С. 67—75.

- Гельцер Ю. Г. Динамика видового состава, численности и биомассы простейших подзолистой и дерново-подзолистой почв//Биодинамика и плодородие почвы. Таллин, 1979. С. 16—21.
- Гиляров М. С. Факторы, определяющие вредоносность почвенных вредителей//Защита растений. 1937. Сб. 13. С. 41—53.
- Гиляров М. С. Методы количественного учета почвенной фауны//Почвоведение. 1941. № 4. С. 48—77.
- Гиляров М. С. Сравнительная заселенность почвенными животными темноцветной и подзолистой почв//Почвоведение. 1942. № 9—10. С. 3—15.
- Гиляров М. С. Соотношение размеров и численности почвенных беспозвоночных//Докл. АН СССР. 1944. Т. 43. С. 283—285.
- Гиляров М. С. Особенности почвы как среды обитания и ее значение в эволюции насекомых. М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1949, 280 с.
- Гиляров М. С. Почвенные раковинные амёбы (Testacea) и их использование при изучении болотных почв//Почвоведение. 1955. № 10. С. 61—65.
- Гиляров М. С. Закономерности приспособлений членистоногих к жизни на суше. М.: Наука, 1970, 1970. 276 с.
- Гиляров М. С. Учет крупных беспозвоночных (мезофауны)//Методы почвенно-зоологических исследований. М.: Наука, 1975. С. 12—29.
- Гиляров М. С., Семенова Л. М. Особенности пищеварительной системы почвенных личинок насекомых с разным типом питания//Адаптация почвенных животных к условиям среды. М.: Наука, 1977. С. 49—54.
- Гиляров М. С., Чернов Ю. И. Почвенные беспозвоночные в составе сообществ умеренного пояса//Ресурсы биосферы. Л.: Наука, 1975. С. 218—240.
- Гиляров М. С., Перель Т. С., Стриганова Б. Р., Чернова Н. М. Роль беспозвоночных в разложении и гумификации растительных остатков//Тр. X Междунар. конгр. почвоведов. 1974. Т. 3. С. 35—42.
- Головянко З. С. Определитель наиболее обыкновенных личинок пластинчатоусых жуков. М.: Л.: Изд-во АН СССР, 1936. 38 с.
- Граевский Э. Я. Термопреферендум и температурный оптимум пресноводных моллюсков и членистоногих//Журн. общ. биологии. 1946. Т. 7. № 6. С. 455—472.
- Граковский В. Г., Исаков А. С. Конструкция буров для отбора образцов почв с ненарушенной структурой//Методы почвенно-зоологических исследований. М.: Наука, 1975. С. 267—275.
- Грейг-Смит П. Количественная экология растений. М.: Мир, 1967. 359 с.
- Гриванов К. П., Антоненко О. П. Изучение хищников вредной черепашки (*Eurygaster integriceps*) в активный период ее жизни с помощью радионуклида ^{14}C //Зоол. журн. 1970. Т. 49, вып. 10. С. 1563—1569.
- Григорьева Т. Г. К методике учета почвенной фауны//Защита растений. 1938. Сб. 18. С. 97—100.
- Грюнталь С. Ю. К методике количественного учета жужелиц (Coleoptera, Carabidae)//Вестн. зоологии. 1981. № 6. С. 63—66.
- Гублер Е. В., Генкин А. А. Применение критериев непараметрической статистики для оценки различий двух групп наблюдений в микробиологических исследованиях. М.: Медицина, 1969. 31 с.

- Длусский Г М* Муравьи саксауловых лесов дельты Мургаба//В кн Насекомые как компоненты биогеоценоза саксаулового леса. М Наука, 1975 С 159—185
- Догель В, Раммельсмейер Ф, Стрелков А К* методике наблюдения над почвенными Protozoa//Тр отд сельскохоз микробиологии Гос ин та опыт агрономии 1927 Т 2 С 155—170
- Долин В Г* Личинки жуков шелкунов (проволочники) Европейской части СССР Киев Урожай, 1964 206 с
- Жданникова Е Н* Микробиологическая характеристика торфяно болотных почв Томской области//В кн Заболоченные леса и болота Сибири М Наука, 1963 С 170—182
- Закс Л* Статистическое оценивание М Статистика 1976 598 с
- Захаров А А* Учет муравейников и термитников//Методы почвенно зоологических исследований М Наука 1975 С 80—99
- Звягинцев Д Г* Влияние диспергирования почвы и десорбции микроорганизмов на их количественный учет чашечным методом//Почвоведение 1966 № 7 С 165—170
- Звягинцев Д Г, Асеева И В, Бабьева И И, Мирчинк Т. Г.* Методы почвенной микробиологии и биохимии М Изд во МГУ, 1980 224 с
- Зенякин Л А* К вопросу о связи термической преференции с реакцией газообмена на температуру у *Oreophthera brumata* L и *Chloridea obsoleta* F (Lepidoptera)//Энтомолог обозрение 1937 Т 27 № 3—4 С 174—186
- Зенякин Л А* К вопросу о методике определения предпочитаемой температуры у насекомых//Энтомолог обозрение 1947 Т 29, № 3—4 С 182—191
- Злогин Р И, Ходашова К С* Роль животных в биологическом круговороте лесостепных экосистем//М Наука, 1974 199 с
- Иванов Н И* Методы физиологии и биохимии растений М, Л Сельхозгиз, 1964 494 с
- Ивлева И В* Температура среды и скорость энергетического обмена у водных животных Киев Наук думка, 1981 232 с
- Исаакян Л А* Электрохимические методы газового анализа в физиологии М, Л Наука, 1964 79 с
- Калабухов Н И* Эколого физиологические особенности животных в условиях среды Харьков Изд во Харьков гос ун та, 1950 268 с
- Калабухов Н И* Методика экспериментальных исследований по экологии наземных позвоночных М, 1951 178 с
- Качинок Л В* Применение закрытого электрода для полярографических исследований газообмена//Биол науки 1967 Т 10 № 1 С 37—40
- Кендэл М Дж* Ранговые корреляции М Статистика 1975 214 с
- Кипенварлиц А Ф* Изменение фауны низинных болот под влиянием мелиорации и сельскохозяйственного освоения Минск Сельхозгиз 1961 198 с
- Кисицына В И* Целлюлазная активность лесных и степных почв Восточной Сибири//Лес и почва Тр Всесоюз конф по лесному почвоведению Красноярск, 1968 С 417—423
- Кожанчиков И В* Физиологическая характеристика стено и эври термии насекомых//Зоол журн 1936 Т 15, вып 2 С 217—241
- Кожанчиков И В* Методы исследования экологии насекомых М Высш шк, 1961 286 с
- Козловская Л С, Данилевич В М, Лебедь Э С* Отношения дождевых червей и почвенной микрофлоры при исследовании на

- новых средах//Болота Карелии и пути их освоения Петрозаводск, 1971 С 165—170
- Козловская Л С, Ракова Н И Ферментативная активность экскрементов беспозвоночных//Исследования по лесному болотоведению и мелиорации Петрозаводск, 1977 С 64—81
- Корганова Г А Исследование почвенных простейших//Методы почвенно зоологических исследований М: Наука, 1975 С 54—72
- Корганова Г А Раковинные амебы в почвах хвойно широколиственных лесов как показатель особенностей среды Автореф дис канд биол наук М, 1979 24 с
- Корганова Г А Динамика биомассы раковинных амеб в основных биогеоценозах Подмосковья//Сезонная динамика почвенных процессов Таллин, 1979а С 95—97
- Корн Г, Корн Т Справочник по математике для научных сотрудников и инженеров Изд 5 М Наука, 1984 831 с
- Космачевский А С К вопросу о питании личинок жуков щелкунов (Coleoptera, Elateridae)//Энтомологическое обозрение 1958 Т 37 С 798—806
- Костюк Н А Культивирование нематод растений Итоги науки М ВИНТИ Зоология (нематоды растений) М, 1971 С 92—117
- Кульбак С Теория информации и статистика М Наука, 1967 408 с
- Кудрин А И Об усовершенствовании учетов численности способом исчерпывания при помощи ловушек//Зоол журн 1971 Т 50, вып 9 С 1388—1400
- Кудряшова И В Вес дождевых червей в связи с гидрологическими условиями почвы//Pedobiologia 1982 Bd 23 N 3 P 234—243
- Куперштейн М Л Использование реакции преципитации для количественной оценки влияния Pterostichus genuliger (Coleoptera, Carabidae) на динамику популяции вредной черепашки Eurygaster integriceps (Hemiptera, Scutelleridae)//Зоол, журн 1974 Т 53, вып 4 С 557—565
- Купревич В Ф, Щербакова Т А Почвенная энзимология Минск, 1966 274 с
- Купревич В Ф Первые итоги исследований по ферментам почвы Минск, 1968 С 3—8
- Курчева Г Ф Роль беспозвоночных животных в разложении дубового опада//Почвоведение 1960 № 4 С 16—23
- Курчева Г Ф Влияние повышенной численности беспозвоночных и увлажнения на скорость разложения дубовой подстилки//Pedobiologia 1967 Bd 7, N 1/3, P 228—238
- Курчева Г Ф Роль почвенных животных в разложении и гумификации растительных остатков. М: Наука, 1971 155 с
- Куузик А Изучение цикличности газообмена у жуков (Coleoptera) при помощи постоянной записи газового хроматографа//Изв АН ЭССР 1976 Т 25 Биология, № 2 С 97—105
- Лепинис А К Модифицированный метод предельных разведений при исследовании почвенных Protozoa//Зоол. журн 1970 Т 49, вып 12 С 1869—1873
- Ликвентов А В Суточные и сезонные изменения температурного предпочтения жуков Pseudophonus pubescens Müll//Энтомологическое обозрение 1949 Т 30, № 3—4. С 208—215
- Ликвентов А В Использование предпочтительной температуры при изучении поведения насекомых//Зоол журн 1960 Т 39, вып 1 С 53—62.

- Мазанцева Г П* Определение биомассы почвенных беспозвоночных по морфометрическим показателям//Методы почвенно зоологических исследований М Наука, 1975 С 100—107
- Мазанцева Г П* Определение веса некоторых почвенных беспозвоночных по линейным измерениям//Pedobiologia 1976 Bd 16 N 1 P 44—50
- Мазанцева Г П* Определение веса *Sarmatiulus kessleri* и *Schizophylum caspium* (Diplopoda, Julioidea) по длине тела//Зоол журн 1977 Т 56, вып 10 С 1567—1569
- Макфедьен Э* Экология животных Цели и методы М Мир 1965 375 с
- Малевиц И И* Дождевые черви (Lumbricidae) окрестностей Галичской биостанции//Учен зап МГПИ им Потемкина 1951 С 85—114
- Мержеевская О И* Новый фиксатор для гусениц//Зоол журн 1965 Т 54, вып 2 С 299—300
- Метлицкий О З* Динамические методы выделения нематод из почвы//Фитогельминтологические исследования М Наука, 1978 С 77—89
- Методы почвенно зоологических исследований М Наука, 1975 280 с
- Мешкова Н П, Северин С Е* Практикум по биохимии животных М, 1950 290 с
- Мешкова Н М, Бызова Ю Б, Виленкина М Н, Виленкин Б Я* Дыхание растущих особей *Deroceras (Agriolimax) reticulatum* (Muller, 1774) (Pulmonata, Agriolimacidae)//Зоол журн, 1982 Т 61, вып 8 С 1148—1153
- Мончадский А С* О типах реакций насекомых на изменения температуры окружающей среды//Изв АН СССР Сер биол № 2 С 171—200
- Николок В Ф* Почвенные простейшие и их роль в культурных почвах Узбекистана Ташкент Изд во АН УзССР, 1956 144 с
- Николок В Ф* Протисты (Protozoa) почв Узбекистана Ташкент Фан 1965 173 с
- Николок В Ф, Гельцер Ю Г* Почвенные простейшие СССР Ташкент Фан, 1972 311 с
- Николок В Ф, Мавлянова В И* Биомасса простейших как показатель окультуренности и плодородия почв//Проблемы и методы биологической диагностики и индикации почв М Наука, 1976 С 278—292
- Определитель обитающих в почве личинок насекомых/Под ред М С Гилярова М Наука, 1964 491 с
- Остапеня А П* Полнота окисления органического вещества водных беспозвоночных методом бихроматного окисления//Докл АН БССР 1965 Т 9 № 4 С 273—276
- Орлов Д С, Гришина Л А, Ерошчева Н Л* Практикум по биохимии гумуса М Изд во МГУ, 1969 155 с
- Переверзев В Н, Голубко Э А, Алексеева Н С* Измерение состава органического вещества торфяно болотных почв в условиях Крайнего Севера Л, 1970 99 с
- Перель Т С, Карпачевский Л О* О некоторых особенностях разложения опада в широколиственно еловых лесах//Pedobiologia 1968 Bd 8 N 3 P 306—312
- Перфильев Б В, Габеев Д Р* Капиллярные методы изучения микроорганизмов М Изд во АН СССР, 1961

- Петрова А. И.* Методы определения биологической активности почвы//Микроорганизмы в сельском хозяйстве. М.: Изд-во МГУ, 1963. С. 422—427.
- Плохинский Н. А.* Биометрия. Новосибирск: Изд-во СО АН СССР, 1961. С. 16—21.
- Плохинский Н. А.* Алгоритмы биометрии. М.: Изд-во МГУ, 1980. 150 с.
- Положенцев П. А., Артюховский А. К.* К методике изучения мермитид (Mermitihidae, Nematodes)//Методы исследования нематод растений и насекомых. М.; Л.: Наука, 1963. С. 70—90.
- Пономарева В. В., Плотникова Т. А.* Гумус и почвообразование. Л., 1980. 221 с.
- Пошон Ж, де Баржак Г.* Почвенная микробиология. М.: Изд-во иностр. лит., 1960. 560 с.
- Пузаченко Ю. Г., Скулкин В. С.* Структура растительности лесной зоны СССР. М.: Наука, 1981. 273 с.
- Резвой П. Д., Ялынская Н. С.* К методике определения биомассы планктона и бентоса//Зоол. журн. 1960. Т. 39, вып. 8. С. 1250—1252.
- Роскин Г. И.* Микроскопическая техника. М., 1946. 324 с.
- Роскин Г. И., Левинсон Л. Б.* Микроскопическая техника. М., 1957. 467 с.
- Россолимо Т. Е., Рыбалов Л. Б.* Термо- и гирропреферендумы некоторых почвенных беспозвоночных в связи с их биотопическим распределением//Зоол. журн. 1979. Т. 58, вып. 12. С. 1802—1810.
- Роуз Э.* Химическая микробиология. М.: Мир, 1971. 294 с.
- Руководство к обследованию вредной энтомофауны почвы/Под ред. С. П. Иванова. Киев: Полтава, 1937.
- Рыбалов Л. Б.* Смена мезофауны в процессе первичного почвообразования на сухих песках//Зоол. журн. 1979. Т. 58, вып. 6. С. 824—829.
- Семенова Л. М.* Зависимость строения пищеварительной системы дождевых червей (Lumbricidae, Oligochaeta) от характера питания//Зоол. журн. 1966. Т. 45. С. 986—997.
- Семенова Л. М.* Фиксация и подготовка материала для гистологического и гистохимического изучения почвообитающих беспозвоночных//Методы почвенно-зоологических исследований. М.: Наука, 1975. С. 241—248.
- Сент-Илер К. К.* Наблюдения над фауной почв окрестностей г. Воронеж//Тр. Воронеж. гос. ун-та. 1938. Т. 10, № 3. С. 37—65.
- Сергеева Т. К.* Методика получения антисыворотки к белкам вредной черепашки (*Eurygaster integriceps*) для изучения ее хищников//Зоол. журн. 1970. Т. 49, вып. 3. С. 440—443.
- Сергеева Т. К.* Серологическое обнаружение хищников рыжего соснового пилильщика *Neodiprion sertifer* (Hymenoptera, Dipriopidae)//Зоол. журн. 1974. Т. 53, вып. 5. С. 710—719.
- Сергеева Т. К.* Методы и современное состояние изучения трофических связей хищных почвенных беспозвоночных: серологический анализ питания//Зоол. журн. 1982. Т. 61, вып. 1. С. 109—119.
- Ситникова Л. Г.* Жизненные циклы некоторых панцирных клещей и методы их культивирования//Зоол. журн. 1959. Т. 38, вып. 11. С. 1663—1673.
- Соболева-Докучаева И. И., Подоплеков И. И.* Изучение специфических сывороток к растворимым белкам некоторых кормовых объектов жуужелиц (*Carabidae*)//Зоол. журн. 1972. Т. 51. С. 280—286.

- Стебаева С К* Опыт экспериментального изучения отношения к влажности у ксерофильных и мезофильных видов ногохвосток//Проблемы почв зоологии Баку, 1972 С 128—129
- Стебаева С К* Резистентность ногохвосток (*Collembola*) различных жизненных форм к сухости//Зоол журн 1975 Т 54, вып 11 С 1609—1617
- Стебаева С К, Сулова Т И, Щербаков Д Ю* Отношение ногохвосток (*Collembola*) различных жизненных форм к градиенту температур//Зоол журн 1977 Т 56, вып 7 С 1021—1029
- Стриганова Б Р* Закономерности строения органов питания личинок жесткокрылых М Наука 1977 127 с
- Стриганова Б Р* Распределение двупарноногих многоножек (*Diplopoda*) в смешанных лесах Северного Кавказа и их роль в разложении лесной подстилки//Зоол журн 1969 Т 48 С 1623—1628
- Стриганова Б Р* О разложении целлюлозы в кишечнике кивсяков *Rachyuulus foetidissimus* (Mur) (*Juloidea, Diplopoda*)//Докл АН СССР 1970 Т 190, № 3, С 703—705
- Стриганова Б Р* Возрастные изменения активности питания у кивсяков (*Juloidea*)//Зоол журн, 1971 Т 50, вып 10 С 1472—1476
- Стриганова Б Р* Методы оценки деятельности беспозвоночных сапрофагов в почве//Методы почвенно зоологических исследований М Наука 1975 С 108—127
- Стриганова Б Р* Адаптация двупарноногих многоножек (*Diplopoda*) к обитанию в почвах с различным гидротермическим режимом//Адаптация почвенных животных к условиям среды М Наука, 1977 С 151—166
- Стриганова Б Р* Питание почвенных сапрофагов М Наука, 1980 243 с
- Стриганова Б Р* Определение пищевого рациона у дождевых червей *Nicodrilus caliginosus* и *Eisenia pordenskioldi* (*Lumbricidae, Oligochaeta*)//Докл АН СССР 1982 Т 266, № 2 С 500—503
- Стриганова Б Р, Рахманов Р Р* Сезонный ритм пищевой активности кивсяков *Amblyulus continentalis* и *Schiozophilum caspium* (*Diplopoda*) в Ленкоранском районе Азербайджана//Зоол журн 1973 Т 52, вып 3 С 372—378
- Тарба З М* Адаптации почвенных панцирных клещей к температуре и другим факторам среды//В кн Адаптация почвенных животных к условиям среды М Наука 1977 С 167—178
- Терентьев П В, Ростова Н С* Практикум по биометрии Л Изд во ЛГУ 1977 151 с
- Титова Э В* Использование реакции преципитации при изучении взаимоотношений вредной черепашки *Eurygaster integriceps* Put (*Heteroptera, Scutelleridae*) с хищными членистоногими//Энтомолог обозрение 1970 Т 49, вып 2 С 270—277
- Тихомиров С И, Тихомирова А Л* К методике изучения термопреферендума членистоногих обитающих в лесной подстилке//Экология 1972 № 4, вып 1 С 70—77
- Тихомирова А Л* Сравнительные данные по гигропреферендуму стафилинид (*Coleoptera, Staphylinidae*)//Зоол журн 1968 Т 47, вып 10 С 1498—1505
- Тихомирова А Л* Морфоэкологические особенности и филогенез стафилинид (с каталогом фауны СССР) М Наука 1973 192 с
- Тихомирова А Л* Учет напочвенных беспозвоночных//Методы почвенно зоологических исследований М Наука, 1975 С 73—85

- Тиштер В* Сельскохозяйственная экология М Колос 1971 454 с
- Турьги́на Е С* Культивирование сапробиотических нематод//Методы исследования нематод растений, почвы и насекомых М Изд во АН СССР, 1963 С 130—132
- Тхай Тран Бай* Развитие слепой кишки и тифлозоля у представи телии рода *Pheretima* (Megascolecidae)//Докл АН СССР 1982 Т 266 № 2 С 503—506
- Уильямсон М* Анализ биологических популяций М Мир, 1975 271 с
- Умбрейт В В, Буррис Р Х, Штауффер Дж Ф* Манометрические методы изучения тканевого обмена М Изд во иностр лит, 1951 359 с
- Умнов А А* Применение статистических методов для оценки пара метров эмпирических уравнений, описывающих взаимосвязь ме жду энергетическим обменом и массой тела животных//Журн общ биологии 1976 Т 37, № 1 С 71—86
- Фасулати К К* Полевое изучение наземных беспозвоночных М Высш шк 1971 424 с
- Федоров М В* Руководство к практическим занятиям по микробио логии М, 1957 231 с
- Филиппев И Н* Нематоды, вредные и полезные в сельском хозяй стве М, Л ОГИЗ, Сельхозгиз, 1934 440 с
- Хабиров И К* Физические свойства и ферментативная активность// Экологические условия и ферментативная активность почв Уфа, 1979 С 99—112
- Хазиев Ф Х* Ферментативная активность почв М Наука 1976 179 с
- Хазиев Ф К* Основы системно экологического анализа фермента тивной активности почв//Экологические условия и ферментатив ная активность почв Уфа, 1979 С 3—18
- Хочачка П, Сомеро Дж* Стратегия биохимической адаптации М Мир, 1977 398 с
- Чернов Ю И* Природная зональность и животный мир суши М Мысль 1975 222 с
- Чернов Ю И* Основные синэкологические характеристики почвен ных беспозвоночных и методы их анализа//Методы почвенно зоологических исследований М Наука, 1975а С 160—216
- Чернова Н М* Экологические сущесии при разложении раститель ных остатков М Наука 1977 200 с
- Чернышева Л В, Конилов А С* Зависимость эффекта ультрафио летового воздействия на насекомых от температурных усло вий//Проблемы создания замкнутых экологических систем М Наука 1967 С 240—243
- Численко Л Л* Номограммы для определения веса водных орга низмов по размерам и форме тела М Наука, 1968 105 с
- Шеффе Г* Дисперсионный анализ М Наука 1980 512 с
- Штина Э А, Готтербах М М* Экология почвенных водорослей М Наука 1976 143 с
- Шуьгина О К* вопросу о микроскопическом изучении микробиоло гического населения почвы//Тр Отд сельскохоз микробиологии гос ин та опытной агрономии 1927 Т 2 С 115—134
- Щербалов А П* Новый ультрамикрометод измерения газообмена// Усп соврем биологии, 1940 Т 12, вып 1 С 176—178
- Юл Дж Э, Кендэл М Дж* Теория статистики М Госстатиздат, 1960 779 с

- Abrahamsen G* The influence of temperature and soil moisture on the population density of *Cognettia sphagnetorum* (Oligochaeta, Enchytraeidae) on cultures with homogenized raw humus//*Pedobiologia* 1971 Bd 11 H 5 S 417—424
- Abrahamsen G* Sampling design in studies of population densities in Enchytraeidae (Oligochaeta)//*Oikos* 1969 Bd 20 S 54—56
- Abrahamsen G* Studies on body-volume, body-surface area, density and live weight of Enchytraeidae (Oligochaeta)//*Ibid* 1973 Bd 13 H 1 S 6—15
- Abrahamsen G* Biomass and body surface area of population of Enchytraeidae and Lumbicidae (Oligochaeta) in Norwegian coniferous forest soils//*Ibid* S 28—39
- Agrell J* Zur Ökologie der Collembolen Untersuchungen im Schwedischen Lapland//*Opusc entomol Suppl* 1941 Bd 3 S 1—236.
- Anderson J M, Healey I N* Improvements in the gelatine embedding technique for woodland soil and litter samples//*Pedobiologia* 1970 Bd 10 S 108—210
- Andrassy E* Die Rauminhalts- und Gewichtsbestimmung der Fadenwürmer (Nematoden)//*Acta zool Acad sci hung*, 1956 K 2 Old 1—15
- Aucamp J L, Ryke P A J* Preliminary report on a grease-film extraction method for soil micro-arthropods//*Pedobiologia* 1964 Bd 4 S. 77—79
- Bachelier G* La faune des sols, son écologie et son action 2^{me} éd O R S T O M, P, Initiation—Documentations Techniques N 38, 1978
- Baermann G* Eine einfache Methode zur Auffindung von Ancylostomum (Nematoden)—Larven in Erdproben//*Genesk Tijds Ned Indie* 1917 Bd 57 S 131—137
- Baker G H* The water and temperature relationships of *Ommatoiulus moreletii* (Diplopoda Julidae)//*J Zool* 1980 Vol 190 P 97—108
- Balogh J* Lebensgemeinschaften der Landtiere, ihre Erforschung unter besonderer Berücksichtigung der zoözoologischen Arbeitsmethoden B, Budapest Akad Verl 1958 260 S
- Barber H* Traps for cave-inhabiting insects//*J Elisha Mitchell Sci Soc* 1931 Bd 46 S 259—266
- Barker K R, Nusbaum C J* Diagnostic and advisory programs//*Plant parasitic nematodes L Acad press* 1971 Vol 1 P 281—301
- Barlow C A* A factorial analysis of distribution in three species of diplopods//*J Entomol* 1957 Vol 100 P 349—426
- Barr D* Methods for the collection, preservation and study of water mites (Acari Parasitengona) M₁ Publ Roy Ontario Museum, 1973 28 p
- Baumler W* Zur Morphologie, Biologie und Ökologie von *Hermannia gibba* (C L Koch) unter Berücksichtigung einiger Begleitarten//*Ztschr angew Entomol* 1970 Bd 66, H 3/4, S 257—277, 337—362
- Berlese A* Apparecchio per raccogliere presto ed in gran numero piccoli Astropodi//*Redia* 1905 Vol 2 P 85—90
- Berthet P* L'activité des oribatides (Acari Oribatei) d'une dunaue//*Mem Inst roy sci natur Belg* 1964 Vol 152 P 1—152
- Berthet P* The metabolic activity of oribatid mites in different forest floors//*Secondary Productivity of Terrestrial ecosystems/Ed K Pctrusewicz Warszawa, 1967 P 709—725*
- Bhattacharrya S K* Laboratory studies on the feeding habits and life cycle of soil inhabiting mites//*Pedobiologia* 1962 Bd 1, H 4

- Block W* Some characteristics of the Macfadyen high gradient extractor for soil micro-arthropods//*Oikos* 1966 Bd 17 S 1—9
- Bockock K L, Heath J* Feeding activity of the millipede *Glomeris marginata* (Villers) in relation to its vertical distribution in soil//*Progress in Soil Biology Braunschweig* 1967 P 233—240
- Bodenheimer F S, Schenkin D* Über die Temperaturabhängigkeiten von Insekten I Über die Vorzugstemperatur einiger Insekten//*Ztschr vergl Physiol* 1928 Bd 8, H 1, S 1—15
- Bogucki Z, Helzyk Kazecka K* Efficiency of food assimilation in the Roman snail (*Helix pomatia* L.)//*Bull Soc amis sci et lett Pozn* D 1977 (1978) Vol 17 P 157—167
- Bolton P J* The use of an infra-red gas analyser for studies on the respiratory metabolism of Lumbricidae *Proc Paris Symposium*, 1967 UNESCO, 1970 P 269—276
- Bonnet L* Le peuplement thecamoebien des sols//*Rev écol et biol sol* 1964 Vol 1 P 123—408
- Bonnet L, Thomas R* Une technique d'isolement des thecamoebiens (Rhizopoda, Testacea) du sol et ses résultats//*C r Acad sci* 1958 Vol 247 P 1901—1903
- Boreham P, Ohuagu C* The use of serology in evaluating invertebrate prey predator relationships//*Bull Entomol Res* 1978 Vol 68 N 2 P 171—194
- Bornebuch C H* The fauna of forest soil//*Det fortlige forsogsv seni Danmark*, 1930, p 1—124.
- Bouche M B* Application de la volumetrie à l'évaluation quantitative de la faune endogée//*Rev écol et biol sol* 1966 Vol 3, N 1
- Brauns A* Praktische Bodenbiologie Stuttgart Fischer, 1968 460 S
- Brey Meyer A* Preliminary data for estimating the biological production of wandering spiders//*Secondary productivity of terrestrial ecosystems Warszawa, Krakow*, 1967 N 11 P 821—834
- Brzun M, Zeuthen E* Notes on the possible use of the magnetic diver for respiration measurements//*C r trav Lab Carlsberg* 1964. Vol 34 P 427—435
- Bullock J A, Smith P U* The relation between dry and fresh weight in some caterpillars//*Entomol exp et appl* 1971 Vol 14, N 1 P 125—132
- Bunt J S, Tchan V T* Estimation of protozoan population in soils by direct microscopy//*Proc Limnol Sec N S Wales*, 1955 Vol 80 P 148—153
- Burges A, Nicolas D* Use of soil section in studying the fungal in soil//*Soil Sci* 1961 Vol 92 P 25—34
- Buxton P A* Terrestrial insects and the humidity of the environment//*Biol Rev* 1932 P 275—320
- Byzova Ju B* Respiratory metabolism in some millipedes//*Rev écol et biol sol* 1967 Vol 4, N 4 P 611—624
- Campbell R E* Temperature and moisture preferences of wireworms//*Ecology* 1937 Vol 18, N 4 P 479—489
- Chardez D, Delecour F* Technique d'isolement et de numération des thecamoebiens du sol//*Rev Écol Biol sol* 1970 N 13 P 49—50
- Chernova N M, Byzova Yu B, Chernova A T* Relationship of number, biomass and gaseous exchange rate indices in microarthropods in substrates with various organic matter contents//*Pedobiologia* 1971 Bd 11 P 306—314
- Cloudsley-Thompson J J* On the responses to environmental stimuli and the sensory physiology of millipedes (Diplopoda)//*Proc Zool soc London* 1951 Vol 121 P 253—277.

- Conover R J* Assimilation of organic matter by zooplankton//Limnol and Oceanogr 1966 N 11 P 338—345
- Culter D W, Crump L M, Sandon H* A quantitative investigation of the bacterial and protozoan population of the soil, with an account of the protozoan fauna//Phil Trans Roy Soc London B 1922 Vol 211 P 317—350
- Courtney W D, Polley D, Miller V L* TAF, an improved fixative in nematode technique//Plant Disease Rep 1955 Vol 39 P 570—571
- Couteaux M M* Une technique d'observation des thecamoebiens du sol pour l'estimation de leur densite absolue/Rev ecol et biol sol 1967 Vol 4, N 4 P 593—596
- Crossley D, Witkamp M* Effects of pesticide on biota and breakdown of forest litter Trans 8 th Intern Congr Soil Sci Bucharest, 1964 Vol 5, N 3 P 282—286
- Cutler D W* A method for estimating the number of active Protozoa in the soil//J Agr Sci 1920 Vol 10 N 1 P 135—143
- Dadd R H* Digestion in insects//Chem Zool 1970 Vol 5 P 117—142
- Dalenius P* Studies on the Oribatei (Acarı) of the Tornetrask territory in Swedish Lapland I A list of the habitats and the composition of their oribatid fauna//Oikos 1960 Bd 11, N 1 S 80—124
- Darbyshire J F, Wheatley R E, Greaves M P, Inkson R H E* A rapid micromethod for estimating bacterial and protozoan populations in soil//Rev ecol et biol sol 1974 Vol 11 P 464—475
- Dash M C, Cragg J B* Selection of microfungi by Enchytraeidae (Oligochaeta) and other numbers of the soil fauna//Pedobiologia 1972 Bd 12 H 4 S 282—286
- Davies W M* The effect of variation in relative humidity in certain species of Collembola//J Exp Biol 1928 Vol 6, N 1 P 79—86
- Deal J* The temperature preference of certain insects//J Anim Ecol 1941 Vol 10 P 323—356
- Decloutre L* Perfectionnement apporte a un appareil pour une technique d'isolement des microorganismes du sol des mouses et des lauz//Rev gen hydrol 1960 Vol 45, N 1 P 169—171
- Delamare-Deboutteville Cl* La microfauna du sol des pays temperes et tropicaux//Vie et milieu 1951 Suppl 1 60 p
- Dempster J P* A quantitative study of the predators on the eggs and larvae of the broom beetle *Phytodectia olivacea* Forster using the precipitin test//J Anim Ecol 1960 Vol 29 P 149—167
- Dixon M* Manometric methods as applied to the measurement of cell respiration and other processes Cambridge Univ press 1941 121 p
- Dixon M* Manometric methods N Y 1943 221 p
- Dobrowski A, Niedbala W, Rajski A* Polska konstrukcja aparatu Macfadyena do wypaszania drobnych stawonogow glebowych//Wiad ecol 1976 Wol 22 S 142—155
- Doncaster C C* Nematode feeding mechanisms I Observations in *Rhabditis* and *Pelodera*//Nematologica 1962 Vol 8, N 4 P 313
- Dougherty E G, Solberg B* Monoxenic cultivation of Enchytraeid annelids//Nature 1960 Vol 186 P 1067—1068
- Dougherty E G, Solberg B* Axenic cultivation of an enchytraeid annelids//Ibid 1961 Vol 192 P 184—185
- Drift van der J* Analysis of the animal community in a beech forest floor//Tijdschr Entomol 1951 Bd 94 Blz 1—168

- Drobkin V N* Physiology of nematodes of the soil//Ann N Y Acad Sci 1966 Vol 139, N 1 P 39—52
- Dunger W* Tiere im Boden Wittenberg Lutherstadt 1964 265 S
- Dunkle R L, Strong F E* A digital electrolytic microrespirometer//Ann Entomol Soc Amer 1972 Vol 65, N 3 P 705—710
- Dunger W* Über die Zersetzung der Laubstreu durch die Boden — Makrofauna im Auenwald//Zool Jb Abt 3 1958 Bd 86, N 2 S 139—180
- Dunger W* Leistungsspezifität bei Streuzersetzern//Soil organisms Amsterdam, 1963 P 92—102
- Dunger W* Praktische Erfahrungen mit Bodenfallen//Entomol Nachr 1963a Bd 4 S 41—46
- Dunger W* Die Entwicklung der Bodenfauna auf rekultivierten Kippen und Halden des Braunkohlentagebaues//Abh und Ber Naturkundemus Gorlitz 1968 Bd 43 S 1—256
- Dunger W* Strukturelle Untersuchungen an Collembolengemeinschaften des Hruby Jeseník Gebirges (Altvatergebirge, ČSSR)//Ibid 1977 Bd 50, N 6 S 1—43
- Dunger W, Engelmann H D* Testversuche mit immissionsgeschützten Bodenfallen für Mikroarthropoden//Pedobiologia 1978 Bd 18 S 448—454
- Edney E B* The evaporation of water from woodlice and millipede *Glomeris*//J Exp Biol 1951 Vol 28 P 91—115
- Edwards C A* Relationship between weights, volumes and numbers of soil animals//Progress in Soil Biology Braunschweig, Amsterdam 1967 P 585—594
- Edwards L J* A thermal conductivity device for detecting the discontinuous release of carbon dioxide by insects//Ann Entomol Soc Amer 1970 Vol 63, N 2 P 627—629
- Edwards C A, Heath C W* The role of soil animals in breakdown of leaf material//Soil organisms Amsterdam, 1963 P 76—84
- Edwards C A, Fletcher K E* A comparison of extraction methods for terrestrial arthropods//Methods of study in quantitative soil ecology/Ed J Phillipson Oxford, Edinburgh IBP Blackwell Sci Publ 1971 P 150—185
- Edwards C A, Whiting A E, Heath G W* A mechanized washing method for separation of invertebrates from soil//Pedobiologia 1970 Bd 10 S 141—148
- El-Duweini A K, Ghabbour S I* Temperature relations of three Egyptian oligochaete species//Oikos 1965 Bd 16 S 9—15
- Elmes G W, Webb N R* An interpretation of morphometric and gravimetric differences shown by adult *Steganacarus magnus*//J Zool 1972 Vol 166 P 19—24
- Emden F I van* The treatment of Coleoptera larvae in soil samples//Methods in soil zoology L 1958 Sect 3 pap 20 P 1—2
- Evans A, Guild W* Studies on the relationships between earth-worms and soil fertility//Ann Appl Biol 1947 Vol 34 P 307—330
- Farahat A Z* Studies on the influence of some fungi on Collembola and Acari//Pedobiologia 1966 Bd 6, H 1 S 1—13
- Fenn W O* A new method for the simultaneous determination of minute amounts of carbon dioxide and oxygen//Amer J Physiol 1927 Vol 84, N 1 P 110—118
- Fenton G* The soil fauna//J Anim Ecol 1947 Vol 16 P 76—93
- Filipjev J N, Stekhoven J H* A manual of agricultural helminthology Leiden, 1941 878 p
- Fisher R A, Yates F* Statistical tables for biological, agricultural and medical research Oliver, Boyd, 1943

- Forsslund K H* Über die Einsammlungsmethodik bei Untersuchungen der Bodenfauna//Medd Statens Skogsforsningssinst 1948 Vol 37 P 1—22
- Fourché J* Un respirometre electrolytique pour l'étude des pupées isolées de drosophile//Bull biol France et Belg 1963 Vol 98 P 475—489
- Francé R H* Das Edaphon Munchen, 1921 99 S
- Fullon B B* Some temperature relations of *Melanotus* (Coleoptera, Elateridae)//J Econ Entomol 1928 Vol 21, N 6 P 889—897
- Gatho H E* Simple technique for the rearing of *Collembola* and a note of the use of fungistatic substance in the cultures//Entomol Mon Mag 1961 Vol 96 P 138—140
- Geoffroy J J* Les peuplements de chilopodes et de diplopodes d'une chenaie-charmaie (Station Biologique de Foljuif, Seine et Marne) Thèse du docteur de 3^e cycle, l'Université P et M Curie P, 1979 P 1—179
- Ghilarov M S* Soil biocoenoses Methods of study on soil ecology P UNESCO, 1970 P 67—77
- Girardeau J H Jun* Rearing the tobacco wireworm *Conoderus vesperinus* (Coleoptera Elateridae) in the laboratory//J Ga Entomol Soc 1974 Vol 9, N 1 P 15—17
- Gosswald K* Über den Feuchtigkeitssinn ökologisch verschiedener Ameisen Arten und seine Beziehungen zu Biotop, Wohn- und Lebensweise//Ztschr wiss Zool 1941 Bd 154, H 3 S 247—344
- Grandjean F* Statistique sexuelle et parthénogénèse chez les oribates//C R Acad sci 1941 Vol 212 P 463—467
- Grant W C Jun* Studies on moisture relationships in earthworms//Ecology, 1955a Vol 36, N 3 P 400—407
- Grant V C* Temperature relationships in the megascolecid earthworm *Pheretima huperciensis*//Ibid 1955b Vol 36 P 412—417
- Grasslands, system analysis and man/Ed D Coleman, A Sasson Cambridge Univ press, 1980, 950 p
- Grisse A T, de* Redescription on modifications de quelques techniques utilisées dans l'étude des nematodes phytoparasitaires//Meded Fac landbouwwetensch Rijksuniv Gent 1969 Bd 34, N 2 P 351—367
- Gromysz-Kalkowska K* Minimum, maximum and preferential temperature in *Orthomorpha gracilis* C L Koch (Diplopoda)//Folia biol (PRL) 1967 Vol 15 N 1 P 101—115
- Gromysz-Kalkowska K* Thermal behavior of variously acclimatized individuals of *Polydesmus complanatus* L //Ibid 1970a Vol 18, N 3 P 205—219
- Gromysz-Kalkowska K* The influence of body weight external temperature seasons of the year and fasting on respiratory metabolism in *Polydesmus complanatus* L //Ibid 1970b Vol 18 N 4 P 311—326
- Guild W J* Earthworms and soil structure//Soil Biology L, 1955 P 83—98
- Gunn D L* The temperature and humidity relations of the cockroach (*Blatta orientalis*) I Desiccation//J Exp Biol 1933 Vol 10 P 274—285
- Gunn D L* The humidity reactions of the woodlouse, *Porcellio scaber* (Latreille)//Ibid, 1937 Vol 14 P 178—186
- Gunn D L Cosway C A* The temperature and humidity relations of the cockroach V Humidity preference//Ibid 1938 Vol 15 P 555—563

- Gunn D. L., Kennedy J S* Apparatus for investigating the reactions of land arthropods to humidity//*Ibid* 1936 Vol 13 N 4 P. 450—459
- Haacker V.* Deskriptive, experimentelle und vergleichende Untersuchungen zur Autökologie rhein-mainischer Diplopoden//*Oecologia* 1968 Bd 1. N 1/2 S. 87—129
- Haarlov M., Weis-Fogh T* A microscopical technique for studying the undisturbed texture of soils//*Oikos* 1953 Bd 4 S 44—57
- Hale W. G* A flotation method for extracting Collembola from organic soils//*J. Anim. Ecol.* 1964 Vol 33 P 363—369
- Hale W. G* Post-embryonic development in some species of Collembola//*Pedobiologia* 1965 Bd 5 S 228—243.
- Hale W G* A population study of moorland Collembola//*Ibid* 1966 Bd. 6 S 65—99
- Hamilton C C* Behavior of some soil insects in gradients of evaporating power of air, carbon dioxide and ammonia//*Biol Bull Mar Lab Wood's Hole* 1917 Vol 32 P 159—182.
- Hamilton A G* The infra-red gas analyser as a means of measuring the carbon dioxide output of individual insects//*Nature*. 1959. Vol. 184. P 367—369.
- Hartenstein L* Soil Oribatei VII Decomposition of conifer needles and deciduous leaf petioles by *Steganacarus diaphanum* (Acarina, Phthiracaridae)//*Ann. Entomol Soc Amer.* 1972 Vol 55 P 713—716.
- Hawkins J H.* The bionomics and control of wireworms in Maine//*Main Agr Exp State Bull* 1936. N 381 P 1—146
- Hayes A. J* Studies on the activity and survival of some phthiracaroid mites (Acari: Cryptostigmata) at different relative humidities//*Pedobiologia* 1966 Bd 6, H 3/4 S 281—287
- Heal O W* The use of cultures for studying Testacea (Protozoa: Rhizopoda in soil//*Ibid* 1964 Bd. 4, H 1/2 S 1—7
- Heal O. W* Observation on testate amoebae (Protozoa, Rhizopoda) from Signy Island//*Brit Antarct Surv. Bull* 1965 Vol. 6. P. 43—47.
- Heal O. W* Methods of study of soil Protozoa. Symp Meth. Study Soil Ecology P. 1967. P 1—11.
- Heal O. W* Methods of study in soil protozoa//*Methods of study in soil ecology: Proc of the Paris Symp, UNESCO*//Ed. J. Phillipson UNESCO, 1970. P 119—129.
- Healey I. N.* Apterygotes, Pauropods and Symphylans//*Methods of study in quantitative soil ecology.* Oxford; Edinburgh: IBP, Blackwell, 1971 P 209—232
- Heath G W* An improved method for separating arthropods from soil samples//*Lab Pract* 1965 Vol 14, N 4 P. 430—432
- Heerdt P. F., van* The temperature and humidity preferences of certain Coleoptera//*Proc Kon ned akad Wetensch* 1950. Bd. 53 Blz. 347—360.
- Heerdt P. F., van, Ilings J, Nijenhuis E D* Temperature and humidity preferences of various Coleoptera from the duneland of Terschelling//*Ibid.* C 1956 Bd. 59 Blz 668—676; Bd 60. Blz. 99—106
- Heimbürger H. V.* Reactions of earthworms to temperature and atmospheric humidity//*Ecology* 1924 Vol 5 P 276—282
- Herter K* Untersuchungen über den Temperatursinn der Hausgrille (*Acheta domestica* L.) und der roten Waldameise (*Formica rufa* L.)//*Biol Zentr.-Bl* 1923 Bd 43, H 3 S 282—285
- Herter K* Untersuchungen über die Temperatursinn einiger Insecten//*Ztschr. vergl. Physiol* 1924 Bd 1 S. 221—288

- Herter K* Temperaturoptimum und relative Luftfeuchtigkeit bei *Formica rufa* L // *Ibid* 1925 Bd 2 S 226—232
- Herler K* Eine verbesserte Temperaturorgel und ihre Anwendung auf Insekten und Säugetieren // *Biol Zentr Bl* 1934 Bd 54, H 9/10 S 487—507
- Hoff J K, Mai W F* Comparison of heat and quick freezing for releasing nematodes prior to permanent mounting // *Phytopathology* 1964 Vol 54, N 7 P 869
- Holler H* Technique of the cartesian diver // *C r trav Lab Carlsberg* 1943 N 24 P 399—478
- Hzric A* Nov način fisesacije nematoda // *Zašt bilja* 1971 Sv 22 S 112—113, S 85—94
- Huhta V* Efficiency of different dry funnel techniques in extracting arthropods from raw humus forest soil // *Ann zool fenn* 1972 N 9 S 42—48
- Jalil M* A note on the life cycle of *Platynothrus peltifer* // *J Kans Entomol Soc* 1972 Vol 45 P 309—311
- Janisch E* Über die Methoden zur Konstanthaltung von Temperature und Luftfeuchtigkeit im biologischen Laboratoriumversuch // *Handbuch biol Arbeitsmethoden* (Abderhalden Abt 5 1938 T 10, N 1 *Vergl Physiol N* 3 S 87—112
- Jeanson-Lunsinang C* Action des Lumbriidae sur la microflore totale // *Soil organisms* Amsterdam, 1963 P 271—281
- Jenkins D W, Hassett C C* Radio isotopes in entomology // *Nucleonica* 1950 Vol 6 N 1 P 5—14
- Jones P C T, Mollison J E* A technique for the quantitative estimation of soil micro organisms // *J Gen Microbiol* 1948 Vol 2 P 54—65
- Kempson D, Lloyd M, Ghelardi R* A new extractor for woodland litter // *Pedobiologia* 1963 Bd 3 S 1—21
- King H G, Heath G W* The chemical analysis of small samples of leaf material and the relationship between the disappearance and composition of leaves // *Ibid* 1967 Bd 7, H 2/3 S 192—197
- Kitazawa J* Ecosystem analysis of the subalpine coniferous forest of the Shigayama IBP area, Central Japan Tokyo Univ Tokyo press, 1977 200 p
- Klekowski R Z* Constant pressure volumetric microrespirometer for terrestrial invertebrates // *Methods for ecological bioenergetics* Blackwell Oxford IBP Handbook/Ed W Grodzinski, R Z Klekowski A Duncan 1975a N 24 P 212—225
- Klekowski R Z* Cartesian diver microrespirometry for terrestrial animals // *Ibid* 1975b 367 p
- Koch G P* Activity of soil Protozoa // *J Agr Res* 1915 Vol 5, N 11 P 474—484
- Koch G P* Studies on the activity of soil Protozoa // *Soil Sci* 1916 Vol 11 N 2 P 163—181
- Koffman M* Eine Methode zur direkten Untersuchung der Mikrofauna und Mikroflora des Bodens // *Zentr Bl Bacterol Parasitenk, Infektionskrankh und Hyg* Abt II 1928 Bd 75 S 28—45
- Korganova G A, Geltzer Ju G* Stained smears for the study of soil Testacida (Protozoa, Rhizopoda) // *Pedobiologia* 1977 Bd 17, H 3 S 222—225
- Kraan C van der* Some aspects of field dependent distribution in a population of *Hypogastrura viatica* Tullberg 1872 // *Rec écol et biol sol* 1971 Vol 8 P 99—102
- Krebs H A* The use of «CO₂ buffers» in manometric measurements of cell metabolism // *J Biochem* 1951 Vol 48 P. 349—359

- Krogerus H* Ökologische Untersuchungen über Insecten//Acta zool
tenn 1948 N 53 S 1—157
- Krumbiegel I* Untersuchungen über physiologische Rassenbildung//
//Zool Jb Abt Syst 1932 N 63 S 183—280
- Kruger F* Zwei neue Temperaturorgeln//Verh dt Zool Ges Wilhelms
haven 1951 1952 S 263—266
- Kubiens W R* Micropedology P Ames, Iowa, Collegiate press 1938
243 p
- Kullmann A, Treitag H E* Die stofflichen Veränderungen der abge-
storbenen Wurzeln einiger Kulturpflanzen//Ztschr Acker- und
Pflanzenbau 1957 Bd 103 N 1 S 59—70
- Kuhnelt W* Bodenzoologie Wien 1950 370
- Kuhnelt W* Soil Biology L Faber and Faber, 1960 397 p
- Ladell W R S* A new apparatus for separating insects and other arth-
ropods from the soil//Ann Appl Biol 1936 Vol 23 P 862—879
- Lakhanu K U, Satchell J E* Production by *Lumbricus terrestris* (L)//
//J Anim Ecol 1970 Vol 39, N 2 P 473—492
- Laminger H* Bodenprotozoologie//Mikrobios I (1) 1980 P 1—142
- Landolt Bornstein* Zahlwerte und Funktionen aus Physik, Chemie US
w 1960 Bd II, Th 7 S 35—115
- Langerbuch R* Beiträge zur Kenntnis der Biologie von *Agriotes li-*
nearis L und *Agriotes obscurus* L//Ztschr angew Entomol 1932
Bd 19 H 2 S 278—300
- Larsen B* Biologische Studien über die tunnelgrabenden Käfer auf
Skalligen//Vid medd Dan naturhist foren 1936 Bd 100 S 1—
201
- Lebrun P* Ecologie et biocenotique de quelques peuplements d'arthro-
podes edaphiques//Inst Roy Sci Nat Belg Mem 1971 Vol 165
P 1—203
- Leclercq J* Mise en évidence de réactions au gradient d'humidité chez
plusieurs insectes//Arch Intern Physiol 1947 Vol 55 P 93—116
- Lees A D* On the behavior of wireworms of the genus *Agriotes* Esch
(Coleoptera, Elateridae) I Reactions to humidity//J Exp Biol
1943a Vol 20 P 43—53
- Lees A D* On the behavior of wireworms of the genus *Agriotes* Esch
(Coleoptera, Elateridae) II Reactions to moisture//Ibid 1943b
Vol 20 P 54—60
- Lincoln F* Calculating waterflow abundance on the basis of banding
returns//US Dep Agr 1930 Circ 118 P 1—4
- Lindroth C H* Die Fennoskandischen Carabidae//Kungl Vetensk Vit
lerh Samh Hadling B 1949 Bd 4, N 3 S 1—911
- Lindsay E* The oxygen carbon dioxide exchange of a silver fish//Aust
ral J Exp Biol and Med Sci 1939 Vol 17 P 365—374
- Lipkow E* Biologisch ökologische Untersuchungen über *Tachyporus* —
Arten und *Tachinus rufipes* (Coleoptera, Staphylinidae)//Pedobio
logia 1966 Bd 6 S 140—177
- Loughton B G, Derry C, West A S* Spiders and the spruce bud
worm//Mem Entomol Soc Canad 1963 N 31 P 249—268
- Luxton M* Studies on the oribatid mites of a Danish beech wood soil//
//Pedobiologia 1972 Bd 12 H 6 S 434—463
- Luxton M* Studies on the oribatid mites of a Danish beech wood soil
Biomass, calorimetry and respirometry//Ibid 1975 Bd 15 S 161—
200
- Lyford W H* The palatability of freshly fallen forest tree leaves to mil
ipedes//Ecology 1943 Vol 24 P 252—261
- Macfadyen A* The small Arthropods of a Molinia Fen at Cothill//J
Anim Ecol 1952 Vol 21 P 87—119

- Macfadyen A* Improved funnel type extractors for soil arthropods//*Ibid* 1961a Vol 30 P 171—184
- Macfadyen A* A new system for continuous respirometry of small air breathing invertebrates under nearnatural conditions//*J Exp Biol* 1961b Vol 38 P 323—341
- Macfadyen A* Control of humidity in three funnel type extractors for soil arthropods//*Progress in soil zoology* Butterworths L, 1962 P 158—168
- Madge D* Preferred temperature of land arthropods//*Nature* 1961a Vol 190 P 106—107
- Madge D S* The behaviour of freeliving mites as affected humidity (Acarina, Oribatidae)//*Brit J Anim Behav* 1961b Vol 9 N 1/2 P 108
- Madge D S* The water relations of *Belba geniculosa* and other species of oribatid mites//*Acarologia* 1964a Vol 6, N 3 P 199—223
- Madge D S* The humidity reactions of oribatid mites//*Ibid* 1964b Vol 6, N 3 P 566—591
- Madge D S* The effect of lethal temperatures on oribatid mites//*Ibid* 1965 Vol 7 P 121—130
- Madge D S* Field and laboratory studies on the activities of two species of tropical earthworms//*Pedobiologia* 1969 Bd 9, H 3 S 188—214
- Mais K* Zur Kenntnis der ökologischen Valenz von *Onychiurus cavernicolus* und *Onychiurus vorratscheri*. Über Temperatur — Feuchtigkeits — und Lichtreaktionen//*Ibid* H 4 S 282—287
- Marcuzzi G* Experimental observation on the role of *Glomeris* sp (*Myriapoda* *Diplopoda*) in the process of humification of litters//*Ibid* 1974 Bd 10, H 6 S 401—406
- Marks C F, Sørensen O* Measurement of Nematode respiration with the biological oxygen monitor//*J Nematol* 1971 Vol 3, N 1 P 91—92
- Martin C H, Lewin K P* Some notes on soil Protozoa//*Phil Trans Roy Soc London B* 1914 Vol 205 P 77—94
- Martin C H, Lewin K P* Notes on some methods for estimation of soil Protozoa//*J Agr Sci* 1915 Vol 7 P 106—119
- Martini E* Zur Kenntnis des Verhaltens der Lause gegenüber Wärme// *Ztschr angew Entomol* 1918 Bd 4 S 34—70
- Mayer H* Zur Biologie und Ethologie einheimischer Collembolen//*Zool Jb Abt Syst* 1957 N 85 S 501—570
- McCready M H* Table for rapid interpretation of fermentation tube results//*Canad Publ Hlth J* 1918 Vol 9 P 1—201
- Mellanby K* The evaporation of water from insects//*Biol Rev* 1935 Vol 10 P 317—333
- Mendelsson M* Über den Thermotropismus einzelliger Organismen//*Pflüg Arch ges Physiol* 1895 N 60 S 1—27
- Michael A D* British Oribatidae I—II//*Proc Roy Soc London* 1966 P 1884—1888
- Minderman G* The preparation of microtome sections of unaltered soil for the study of soil organisms in situ//*Plant and Soil* 1956 Vol 8 P 42—48
- Mitchell M J* An improved method for microrespirometry using gas chromatography//*Soil Biol and Biochem* 1973 Vol 5 P 271—274
- Morris H* On a method of separating insects and other Arthropods from soil//*Bull Entomol Res* 1922 Vol 13 P 197—200

- Moulder B C, Reichle D E, Auerbach S I* Significance of spider predation in the energy dynamics of forest floor Arthropod communities Oak Ridge, 1970 170 p
- Murphy P W* The biology of forest soils with special reference to the mesofauna or meiofauna//J Soil Sci 1953 Vol 4 P 155—193
- Muller G, Beier R* Über Wechselbeziehungen zwischen mikroskopischen Bodenpilzen und fungifagen Bodentieren//Zentr-BI Bakteriöl, Parasitenk, Infektionskr und Hyg Abt II 1965 Bd 119 S 133—147
- Muller G, Naglitsch F* Vergleichende Prüfung bodenzoologischer Auslesemethoden für Kleinarthropoden//Zool Jb Abt Syst 1957 Bd 85 S 117—210
- Naglitsch F, Matschke J* Untersuchungen über den Abbau organischer Substanzen im Boden//Pedobiologia 1970 Vol 10 P 121—134
- Neal W K, Jones R M* Infra red gas analyser for Warburg type CO₂ measurements in yeast with a computer programm appendix//Anal Biochem 1972 Vol 49, N 1 P 15—22
- Necheles H* Über Warmeregulation bei wechselwarmen Tieren Ein Beitrag zur vergleichenden Physiologie der Warmeregulation//Pflügers Arch 1924 Bd 204 S 72—86
- Nemenz H* Über den Wasserhaushalt einiger Spinnen, mit besonderer Berücksichtigung der Transpiration//Österr Zool Ztschr 1954 Bd 5 S 123—158
- Netscher C, Seinhorst J W* Propionic acid is better than acetic acid for killing nematodes//Nematologica 1969 Vol 15, N 2 P 286
- Neudecker C* Das Präferenzverhalten von *Agonum assimile* Payk (Carab Coleoptera) in Temperatur Feuchtigkeits und Helligkeitsgradienten//Zool J Abt 3 1974 Bd 101, N 4 S 609—627
- Nielsen C O* An apparatus for quantitative extraction of Nematodes and Rotifers from soil and moss//Natura Yutlandica 1947/1948 N 1 P 271—278
- Nielsen C O* Studies on the soil microfauna II The soil-inhabiting nematodes//Ibid 1949 N 2 P 1—131
- Nielsen C O* Studies on the Enchytraeidae I A technique for extracting Enchytraeidae from soil samples//Oikos 1952/1953 Bd 8 S 187—196
- Nielsen C O* Studies on Enchytraeidae II Field studies//Natura Yutlandica 1955a N 4—5 P 1—58
- Nielsen C O* Survey of a years result obtained by a recent method for the extraction of soil inhabiting Enchytraeid worms//Soil zoology/Ed D McKevan L, Butterworths, 1955b P 202—214
- Nielsen C O* Carbohydrasen in soil and litter invertebrates//Oikos 1962 Bd 13, N 2 S 200—215
- Nieschulz O* Über die Bestimmung der Vorzugstemperatur von Insekten (besonder von Fliegen und Mücken)//Zool Anz 1933 Bd 103 S 21—29
- Nosek J, Kozuch O* The use of carbon dioxide for collecting ticks//Zentr-BI Bakteriöl, Parasitenk, Infektionskrankh und Hyg I Abt Orig B 1962 Bd 211 S 400—402
- O'Connor F B* The Enchytraeidae//Soil Biology/Ed A Burges, F Raw L. Acad press, 1957 P 213—257
- O'Connor F B* Enchytraeidae/Methods of study in soil ecology P UNESCO, 1970 Vol 2 P 277—284
- Oman S, Brzin M* Magnetic diver microgasometer//Anal Biochem 1972 Vol 45, N 1 P 112—127
- O'Neill R V* Adaptative responses to dessication in the millipede *Nar-*

- ceus americanus (Beauvois)//*Amer. Midland. Natur.* 1969. Vol. 82, N 1. P. 182—187.
- Oosterbrink M.* Comparison of techniques for population estimation of soil and plant nematodes//*Methods of study in soil ecology.* P.: UNESCO, 1970. P. 249—255.
- Palmen E.* Die anemohydrochore Ausbreitung der Insekten als zoogeographischer Factor//*Ann. Zool. Soc. Zool. Bot. Fenn. «Vanamo».* 1944. Vol. 10, N 1. P. 1—262.
- Palmen E.* Suomalainen: Experimentalle Untersuchungen über die Transpiration bei einigen Arthropoden, insbesondere Käfern//*Ibid.* 1945. Vol. 11, N 2. P. 1—52.
- Palmen E.* Effect of soil moisture upon «temperature preferendum», in *Dyschirius thoracicus* Rossi (Coleop. Carabidae)//*Ann. entomol. fenn.* 1954. N 20. S. 1—13.
- Palmen E., Rantala M.* On the life-history ecology of *Pachymerium ferrugineum* (C. L. Koch) (Chilopoda, Geophilidae)//*Ann. Zool. Soc. Zool. Bot. Fenn. «Vanamo».* 1954. Vol. 16, N 3. P. 1—44.
- Pardée A. B.* Measurement of oxygen uptake under controlled pressure carbon dioxide//*J. Biol. Chem.* 1949. Vol. 179, N 3. P. 1085—1091.
- Paris O. N., Sikora A.* Radiotracer demonstration of isopod herbivory//*Ecology.* 1965. Vol. 46. P. 729—734.
- Pauly F.* Zur Biologie einiger Belbiden und zur Function ihrer pseudostigmatischen Organe//*Zool. Jb. Abt.,* 1956. Bd. 84, H. 4/5. S. 257—328.
- Perttunen V.* The humidity preference of various Carabid species (Col., Carabidae) of wet and dry habitats//*Ann. entomol. fenn.* 1951. N. 17. S. 72—84.
- Perttunen V.* Reactions of Diplopods to the relative humidity of the air//*Ann. Zool. Soc. Zool. Bot. Fenn. «Vanamo».* 1953. Vol. 16, N 1. P. 1—69.
- Perttunen V.* Réactions de *Ligia italica* F. à la lumière et à l'humidité de l'air//*Vie et milieu.* 1961. Vol. 12, N 2. P. 219—259.
- Petersen H.* Estimation of growth of Collembola. Organisms du Sol et production primaire: IV Colloq. Pedobiol. 1970. Dijon. Dijon, 1971. P. 235—254.
- Petersen H.* Estimation of dry weight, fresh weight and calorific content of various Collembolan species//*Pedobiologia.* 1975. Vol. 15, N 3. P. 222—243.
- Petrusewicz K.* Concepts in studies on the secondary productivity of terrestrial ecosystems//*Secondary productivity of terrestrial ecosystems.* Warszawa. 1967. P. 17—49.
- Petrusewicz K., Macfadyen A.* Productivity of terrestrial animals: Principles and methods//*IBP Handbook.* 1970. N 13. P. 5—54.
- Petterson J.* Technical description of a serological method for quantitative predator efficiency studies on *Rhopalosiphum padi* (L.)//*Swed. J. Agr. Res.* 1972. Vol. 2. P. 65—69.
- Phillipson J.* A contribution to the feeding biology of *Mitopus morio* (F.) (Phalangidae)//*J. Anim. Ecol.* 1960. Vol. 29. P. 35—43.
- Pearce T. G.* The calcium relation of selected Lumbricidae//*Ibid.* 1972. Vol. 41. P. 167—188.
- Pearce T. G.* Gut contents of some Lumbricid earthworms//*Pedobiologia.* 1978. Bd. 18, H. 2. S. 153—157.
- Powell W. M., Nusbaum C. J.* The estimation of plant parasitic nematode populations for advisory purposes//*N. C. Agr. Res. State Technol. Bull.* 1963. N 156. P. 1—23.
- Progress in Soil Zoology*/Ed. P. W. Murphy. Butterworths. L., 1962.

- Radu V C, Tomescu N, Racovita L, Imreh S* Radioisotope researches concerning the feeding and the assimilation of ^{45}Ca in terrestrial isopods//*Pedobiologia* 1971 Bd 11, H 4 S 296—303
- Rapoport E, Tschapek M* Soil water and soil fauna//*Rev ecol et biol sol* 1967 Vol 4 P 1—58
- Raw F* A flotation extraction process for soil micro arthropods//*Soil Zoology*/Ed D K M Kevan Nottingham, 1955 P 341—346
- Raw F* Estimating earthworms population using formalin//*Nature* 1959 Vol 184 P 1661—1662
- Raw F* Studies on earthworm populations in orchards I Leaf burial in apple orchards//*Ann Appl Biol* 1962a Vol 50 P 389—404
- Raw F* Flotation methods for extracting soil arthropods/ *Progress in Soil Zoology*/Ed P W Murphy Butterworths L, 1962b P 199—201
- Reichle D E* Radioisotope turnover and energy flow in terrestrial isopod population//*Ecology* 1967 Vol 48 P 351—366
- Reinecke A J* The influence of acclimation and soil moisture on the temperature preference of *Eisenia rosea* (Lumbricidae)//*Progress in Soil Zoology* Praha 1975 P 341—349
- Renkonen O* A controlled method for separating terrestrial Nematodes//*Oikos* 1949 Bd 1 N 1 S 79—82
- Reuter J* The internal concentration in some Hypotrichous ciliates and its dependence on the external concentration//*Acta zool fenn* 1963 N 104 S 1—94
- Riha G* Zur Ökologie der Oribatiden in Kalksteinboden//*Zool Jb Abt 3* 1951 Bd 80, H 3/4 S 407—450
- Roberts R J, Ridsdill Smith T J* A plough technique for sampling soil insects//*J Appl Ecol* 1972 Vol 9 P 427—430
- Rotschuld G* A study of natural population of *Conomelus anceps* (Cermar) (Homoptera, Delphacidae) including observations on predation using the precipitation test//*J Anim Ecol* 1966 Vol 35 P 413—434
- Salt G, Hollick F S J* Studies of wireworms populations I A census of wireworms in pasture//*Ann Appl Biol* 1944 Vol 31 P 52—64
- Satchell J E* Lumbricidae//*Soil biology L* 1967 P 259—322
- Satchell J E* Methods of sampling earthworm populations//*Pedobiologia* 1969 Bd 9 H 1 S 20—25
- Satchell J E, Lowe D G* Selection of leaf litter by *Lumbricus terrestris* L//*Progress in soil biology Braunschweig*, 1967 P 102—120
- Sawyer D, George R, Rhodes R* Polarography of gases Quantitative studies of oxygen and sulphur dioxide/ *Anal Chem* 1959 Vol 31, N 1 P 2—16
- Seastedt T R, Kothari A, Crossley D A, Jun* A simplified gelatine embedding technique for sectioning litter and soil samples//*Pedobiologia* 1980 Bd 20 S 55—59
- Seinhorst J W* On the killing, fixation and transferring to glycerin of nematodes//*Nematologica* 1962 Vol 8 N 1 P 29—32
- Seinhorst J W* Killing nematodes for taxonomical study with hot f a 4 1//*Ibid* 1966 Vol 12, N 1 P 175
- Seniczak S, Stefanuak O* The microflora of the alimentary canal of *Oppia nitens* (Oribatei)//*Pedobiologia* 1978 Bd 18, H 2 S 110—120
- Service M W* Mosquito ecology Field sampling methods L Appl Sci Publ, 1976 583 p

- Sewerzowa L. B.* Method of counting culture medium and pure culture of soil amoebae//Zentr.-Bl. Bakteriolog., Parasitenk., Infektionskrankh. und Hyd. Abt. I. 1924. Bd. 92. S. 151—158.
- Schaerffenberg B.* Untersuchungen über die Coleoptera und Dipteren des Weidebodens//Ztschr. angew. Entomol. 1939. Bd. 26. S. 536—544.
- Scholander P. F.* Volumetric microrespirometer//Rev. Sci. Instrum. 1942. Vol. 13. P. 32—33.
- Schönborn W.* Beschaltete Amöben (Testacea). Halle; Wittenberg, 1966. 112 S.
- Schönborn W.* Production studies on Protozoa//Öecologia. 1977. Bd. 27. S. 171—184.
- Schremmer F.* Die Mundteile der Brachycerenlarven und Kopfbau der Larve von *Stratiomyia chaemaleoni* L.//Österr. Zool. Ztschr. 1951. Bd. 3, H. 3/4. S. 326—397.
- Shaw G. G.* Grease-film extraction of an arthropod: a modification for organic soils//J. Econ. Entomol. 1970. Vol. 63. P. 1323—1324.
- Shaw J., Staddon B. W.* Conductometric method for the estimation of small quantities of ammonia//J. Exp. Biol. 1958. Vol. 35, N 1. P. 85—95.
- Shelford V. E.* Reactions of certain animals to gradient of evaporating power of air: A study in experimental ecology//Biol. Bull. Mar. Lab. Wood's Hall. 1913. N 25. P. 79—120.
- Shirk F. H.* Soil washing apparatus and methods used in counting wire worm eggs//Dep. Agr. (U. S.), Bureau Entomol. Methuen, 1936.
- Simons W.* Nematode survival in relation to soil moisture//Meded. Landbouwhogeschool, Wageningen, 1973. Bd. 78, N 3. Blz. 3—85.
- Singh B. N.* A method of estimating the numbers of soil Protozoa especially amoebae, based on their differential feeding on bacteria//Ann. Appl. Biol. 1946. Vol. 33, N 1. P. 112—119.
- Skuhravy V.* Die Fallenfangmethode//Čas. Česk. společn. entomol. 1957. Roč. 54. S. 37—40.
- Sohlenius B.* Studies of the interaction between *Mesodiplogaster* sp. and other rhabditid nematodes and Protozoans//Pedobiologia. 1968a. Bd. 8, H. 3. S. 340—344.
- Sohlenius B.* Influence of microorganisms and temperature upon some rhabditid nematodes//Ibid. 1968b. Bd. 8, H. 2. S. 137—145.
- Southwood T. R. E.* Ecological methods. 2nd ed. L.: Chapman, Hall. 1978.
- Speight M. C. D.* A greased-belt technique for the extraction of arthropods from organic debris//Pedobiologia. 1973. Bd. 13. S. 99—106.
- Standen V.* The production and respiration of an enchytraeid population in blanket bog//J. Anim. Ecol. 1973. Vol. 42, N 2. P. 219—245.
- Staniland L. N.* Notes on the use of iodine and chlorphenol against certain plant nematodes//J. Helminthol. 1950. Vol. 24. P. 91—99.
- Stoller B.* An improved test for nematodes in the soil//Plant disease rep. 1957. Vol. 41. N 6. P. 531—532.
- Stout J.* An estimation of microfauna populations in soil and forest litter//J. Soil Sci. 1962. Vol. 13, N 2. P. 314—320.
- Striganowa B. R.* Über die Zersetzung von überwintertem Laubstreu durch Tausendfüßler und Landasseln//Pedobiologia. 1967. Bd. 7, H. 2. S. 125—134.
- Striganova B. R.* Effect of temperature on the feeding activity of *Sarmatiulus kessleri* (Diplopoda)//Oikos. 1972. Bd. 23, N 2. S. 197—199.

- Striganova B R, Mazantseva G P* Age and size structure of a population of *Pachyulius foetidissimus* (Diplopoda) in the Caucasus//*Ibid* 1979 Bd 32 S 416—421
- Szujecki A* Preferendum wilgotnościowe — glebove niektórych gatunków kusakowatych (Col., Staphylinidae), żyjących w ściółce lesnej i na obrezach jezior//*Zesz Naukowe SGGW* 1965a P 79—85
- Szujecki A* Wstępne badania nad długością życia kusakowatych (Col., Staphylinidae) w warunkach niedoboru pary wodnej w powietrzu//*Ibid* 1965b P 87—93
- Takeda H* On the extraction process and efficiency of MacFadyen's high gradient extractor//*Pedobiologia* 1979 Bd 19 S 106—112
- Tanaka M* Ecological studies on communities of soil Collembola in MtSobo, Southwest Japan//*Jap J Ecol* 1970 Vol 20 P 102—110
- Tarras-Wahlberg N* The Oribatei of certain Swedish bog and their environment//*Oikos Suppl* 1961 Bd 1, N 4 S 1—56
- Thiele H U* Experimentelle Untersuchungen über die Abhängigkeit bodenbewohnender Tierarten vom Kalkgehalt des Standorts//*Ztschr angew Entomol* 1959 Bd 44, N 1 S 1—21
- Thiele H U* Experimentelle Untersuchungen über die Ursachen der Biotopbindung bei Carabiden//*Ztschr Morphol Ökol Tiere* 1964 Bd 53 S 387—452
- Thiele H U* Ein Beitrag zur experimentellen Analyse von Euryokie und Stenokie bei Carabiden//*Ibid* 1967 Bd 58 S 355—372
- Thiele H U, Lehmann H* Analyse and synthese im tierökologischen experiment//*Ibid* S 373—380
- Thomsen E, Thomsen M* Über das Thermopreferendum der Larven einiger Fliegenarten//*Zschr vergl Physiol* 1937 Bd 24 S 343—380
- Torne E, von* Erfahrungen bei Fixierung und Konservierung von kleinen terricolen Arthropoden//*Mitt Dtsch Entomol Ges* 1965 Bd 24, H 4 S 66—69
- Torne E, von* Über den Verlauf der Zelluloserotte unter biotisch verschiedenen Versuchsbedingungen//*Pedobiologia* 1966 Bd 6, H 3 S 226—237, H 4 S 288—292
- Thorne G* Principles of nematology N Y, London Mc Graw Hill Book Co, 1961 553 p
- Thorne G, Swanger H U* A monograph of the nematode genera *Dorylaimus* Djaridin, *Aporcelaimus* N G, *Dorylaimoides* N G and *Pungentus* N G//*Capita zool*, 1936 Vol 6, N 4 P 1—220
- Townshend J L* Plant parasitic nematodes in grape and raspberry soil of Ontario and a comparison of extraction techniques//*Canad Plant Disease Surv* 1976 Vol 47, N 3 P 83—86
- Trave J* Ecologie et biologie des oribates saxicoles et arboricoles//*Vie et milieu Suppl* 1963 Vol 14 P 1—267
- Tuft P* A new micro-respirometer with automatic setting and recording apparatus//*J Exp Biol* 1950 Vol 27, N 3/4 P 334—349
- Tullgren A* En enkel apparat for automatiskt vittjande av salligods//*Entomol tidskr* 1917 S 97—100
- Uvarov A V* Decomposition of clover green matter in an arable soil in the Moscow region//*Pedobiologia* 1982 Bd 24, H 1 S 9—22
- Valpas A* Hot rod technique, a modification of the dry funnel technique for extracting Collembola especially from frozen soil//*Ann zool fenn* 1969 N 6 S 269—274
- Vannier G* Reactions des Microarthropodes aux variations de l'état hydrique du sol Techniques relatives a l'extraction des Arthropodes du sol//*Rev ecol et biol sol* 1970 Vol 7 P 289—309

- Vannier G, Cancela da Fonseca J P* L'échantillage de la microfaune du sol//Terre et vie 1966 N 1 P 77—104
- Volz P* Untersuchungen über die Mikrofauna des Waldbodens//Zool Jb Abt Syst 1951 Bd 79 S 514—566
- Vossbrinck C R* Partitioning the biotic and abiotic effects on decomposition and mineralization M S Thesis Fort Collins Colorado State Univ, 1976 52 p
- Wallwork J A* Observations on the behavior of some oribatid mites in experimentally controlled temperature gradients//Proc Zool Soc London 1960 Vol 135, N 4 P 619—629
- Wallwork J* Ecology of soil animals L McGraw Hill, 1970 300 p
- Waloff N* The mechanisms of humidity reactions of terrestrial isopods//J Exp Biol 1941 Vol 18 P 115—135
- Warburg O* Über die Geschwindigkeit der photochemischen Kohlen-säurezersetzung in lebenden Zellen//Biochem Ztschr 1919 Bd 100
- Webb N R, Elmes G W* Energy budget for adult *Steganacarus magnus*//Oikos 1972 Bd 23 N 3 S 359—365
- Weber E* Grundriss der biologischen Statistic Jena Fischer, 1967
- Welte E* Zur Konzentrationmessung von Humussäuren//Ztschr Pflanzenernähr und Bodenk 1956 Bd 74 H 3, S 43—51
- Went J* Influence of earthworms on the number of bacteria in the soil//Soil organisms Amsterdam, 1963 P 260—265
- Wightman J A* Respirometry techniques for terrestrial invertebrates and their application to energetics studies//N Z J Zool 1977 Vol 4 P 453—469
- Williams J A* Wiegert effect of naphthalene application on a coastal plain broomsedge (*Andropogon*) community//Pedobiologia 1971 Bd 11 H 1 S 58—65
- Winteringham F P W* An electrolytic respirometer for insects//Lab Pract 1959 Vol 8 P 372—375
- Witkamp M, Crossley D A* The role of arthropods and microflora in breakdown of white oak litter//Pedobiologia 1966 Bd 6, H 3
- Witkamp M* Drift van der J Breakdown of forest litter in relation to environmental factors//Plant and soil 1961 N 15 P 295—311
- Wolf A V* Notes on the effects of heat in *Lumbricus terrestris* L//Ecology 1938 Vol 19 P 346—348
- Wood G W, Wood F A, Dickinson R A* Carbon dioxide output of individual small insects measured with a gas chromatograph//Canad J Zool 1970 Vol 48, N 4 P 902—903
- Wood T G, Lowton J H* Experimental studies on the respiratory rates of mites from beech woodland leaf litter//Oecologia 1973 Bd 12 S 169—191
- Woodland D J* The ozone problem in electrolytic respirometry and its solution//J Appl Ecol 1973 Vol 10 N 2 P 661—662
- Yeates G W* Nematods of a Danish beech forest I Methods and general analysis//Oikos 1972 Bd 23 S 178—189
- Yeates G W* Nematods of a Danish beech forest//Ibid 1973 Vol 24, N 2
- Yonge C* Feeding mechanism in the invertebrates//Biol Rev 1928, Vol 3 P 21—76
- Zachariae G* Spurentierischer Tätigkeit im Boden des Buchenwaldes//Forstwiss Forschungen 1963 H 20 68 S
- Zeuthen E* Cartesian diver respirometer//Biol Bull 1950 H 98
- Zicsi A* Ein Bodenausstecher zur Einsammeln der Lumbriciden aus Ackerboden//Opusc zool (BRD) 1957 Bd 2 S 71—75
- Zicsi A* Determination of numbers and size of sampling unit for estimating Lumbricid population of arable soils//Progress in soil Zoology/Ed P W Murphy L Butterworth, 1962 P 68—71

Оглавление

Введение (М. С. Гиляров)	3
------------------------------------	---

1

Методы количественных учетов, фиксации и культивирования почвенных беспозвоночных	7
--	---

Глава 1 Учет крупных беспозвоночных (мезофауна) (М. С. Гиляров)	9
--	---

Глава 2 Учет микроартропод (микрофауна) (В. Дунгер)	26
--	----

Глава 3 Учет мелких беспозвоночных на водных воронках (микрофауна) (М. С. Гиляров)	51
---	----

Глава 4 Методы количественного учета почвенных простейших (нанофауна) (Г. А. Корганова)	58
--	----

Глава 5 Методы фиксации, хранения и лабораторного содержания почвообитающих беспозвоночных (Б. Р. Стриганова)	72
--	----

2

Методы эколого-физиологических исследований почвенных беспозвоночных	88
---	----

Глава 1 Методы определения биомассы почвенных животных (Г. П. Мазанцева)	88
---	----

Глава 2 Методы оценки активности метаболизма почвенных беспозвоночных (Ю. Б. Бызова)	98
---	----

Глава 3 Методы исследования питания почвенных беспозвоночных и оценки их роли в трансформации растительных остатков (Б. Р. Стриганова)	125
---	-----

Глава 4	
Методы определения термо-, гигро- и гидропреферендумов почвенных беспозвоночных (Л. Б. Рыбалов)	165
Глава 5	
Методы изучения взаимоотношений почвенных беспозвоночных с микроорганизмами (Л. С. Козловская)	178

3

Использование статистических методов в почвенной зоологии 186

(А. А. Захаров, В. П. Меледич, И. Прассе, Ю. Г. Пузаченко)

Глава 1	
Методы статистического описания выборочных совокупностей	189
Глава 2	
Исследование реальных распределений	198
Глава 3	
Методы сравнения одномерных выборочных совокупностей	211
Глава 4	
Методы статистического исследования случайных функций	215
Глава 5	
Дисперсионный анализ	218
Глава 6	
Корреляционный анализ	231
Глава 7	
Регрессионный анализ	242
Глава 8	
Информационно-логический анализ	252
Литература	264